Aus dem Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus
Kinderklinik der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. Helge)

Beeinflussung von Serumbilirubin und Kernikterus der Gunn Ratte durch Medikamente in der Muttermilch

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Ollinger
Saarburg

1975

Aus dem Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus
Kinderklinik der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. Helge)

Beeinflussung von Serumbilirubin und Kernikterus der Gunn Ratte durch Medikamente in der Muttermilch

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Ollinger
Saarburg

Referent: Frau Professor Dr. L. Ballowitz

Koreferent: Herr Professor Dr. E. Oberdisse

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 2. 12. 85

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	4
II.	Material und Methoden	7
	A. Gunn Ratten	7
	B. Medikamente	8
	C. Versuchsbeschreibung	14
III.	Ergebnisse	18
	A. Letalität, Toxizität	18
	B. Hämatokrit	20
	C. Bilirubin	20
	1. Kontrollversuche	21
	2. Vorversuche	23
	3. Hauptversuche	30
	D. Gewichte	47
	1. Kontrollversuche	47
	2. Vorversuche	51
	3. Hauptversuche (Madribon^{R}, Bactrim^{R})	56
	E. Korrelation zwischen Bilirubin/Gewicht	61
	F. Histochemische Untersuchungen am Kleinhirn	79
IV.	Diskussion	83
V.	Zusammenfassung	106
VI.	Literaturverzeichnis	109
VII.	Tabellenanhang	121

I. Einleitung

Verschiedene Medikamente verursachen bei ikterischen Gunn Ratten einen Abfall der Serumbilirubinkonzentration (SBK), da sie Bilirubin aus der Albuminbindung verdrängen. Dabei verstärkt sich die Gefahr eines Kernikterus (44, 45, 117). Der Dresdner Pathologe C.G. Schmorl beschrieb 1903 zum ersten Mal gelb gefärbte Basalganglien von verstorbenen neugeborenen Kindern als Kernikterus. Er identifizierte die gelbe Pigmentierung nicht als Bilirubin (89).
Es besteht bei Neugeborenen ein Zusammenhang zwischen SBK und Entwicklung eines Kernikterus (5, 104, 106).
Schon 1952 wiesen Hsia und Mitarbeiter darauf hin, daß sich ein Kernikterus (KI) bei Neugeborenen wahrscheinlich dann herausbildet, wenn die SBK 30 mg/dl erreicht, während ein solcher bei SBK < 20 mg/dl in der Regel ausbleibt (41). Mollison und Cutbush haben 1954 ähnliche Werte mit klinischen Daten belegt (58).
Heute ist die Neurotoxizität des Bilirubins für Neugeborene allgemein akzeptiert (21, 27, 36).
Silverman et al berichteten 1956, daß die Gefahr, einen Kernikterus zu entwickeln, nicht allein von der Höhe der SBK abhängt (94). Eine klinische Studie von Dezember 1954 bis August 1955 sollte Informationen über die Effektivität von Antibiotika als Infektionsprophylaxe bei frühgeborenen Kindern geben. In den ersten 5 Lebenstagen erhielt eine Gruppe von 97 Frühgeborenen Oxytetracyclin (Oxy.), während 95 frühgeborene Kinder mit einer Penicillin/Sulfisoxazol (Pen./Sulf.)-Kombination behandelt wurden (94). In der mit Pen./Sulf. behandelten Gruppe starben in den ersten 28 Lebenstagen 60 von 95 Kindern (94). Die Letalität in der Oxy-Gruppe lag wesentlich niedriger; von 97 Kindern starben 27 (94). Infektionen konnten als Erklärung für die höhere Letalität ausgeschlossen werden; es wurde postmoral in der Pen./Sulf.-Gruppe sogar ein signifikant höherer Prozentsatz an sterilen Blutkulturen gefunden (94).
Von 87 verstorbenen Kindern wurden 66 obduziert (94). Ein entscheidender Unterschied wurde nur in der Kernikterushäufigkeit gefunden; in der Pen./Sulf.-Gruppe bei 36 % der in den

ersten 5 Lebenstagen verstorbenen Kindern gegenüber 6 % in der Oxy.-Gruppe. Der Unterschied war noch deutlicher im Zeitraum vom 5. - 28. Lebenstag: Pen./Sulf.-Gruppe 64 %, Oxy.-Gruppe 0 % Kernikterushäufigkeit (94).

Die Höhe der SBK konnte diesen Unterschied nicht erklären. Bei den verstorbenen Kindern beider Gruppen gab es keinen signifikanten Unterschied (94). Bei 50 überlebenden Kindern war der Unterschied sehr deutlich. Umgekehrt zur KI-Häufigkeit war die mittlere maximale SBK in der Oxy.-Gruppe wesentlich höher (16,4 mg/dl) als in der Pen./Sulf.-Gruppe (8,0 mg/dl). Nachdem man die Ergebnisse dieser Studie mit zurückliegenden (38) Beobachtungen verglichen hatte, konnte Penicillin als verursachendes Medikament ausgeschlossen werden; der Verdacht wurde auf Sulfisoxazol und dessen Lösungsvermittler Diäthanolamin gerichtet (94).

Johnson und Mitarbeiter konnten 1959 an Gunn Ratten Sulfisoxazol als verantwortliches Agens herausstellen. Sie fanden heraus, daß nach Gabe des Sulfonamids die SBK abfiel und gleichzeitig ein Kernikterus auftrat (44). Als Erklärung für den Abfall der SBK wurde eine Verdrängung des unkonjugierten Bilirubins durch das Medikament aus der Albuminbindung diskutiert (44), was schon von Odell durch in-vitro Versuche nachgewiesen worden war (62).

Medikamente können das Neugeborene einmal direkt (Injektion und oral) oder indirekt über die Muttermilch erreichen. Es ist unbestritten, daß Stillen gegenüber künstlich hergestellter Nahrung Vorteile für das Neugeborene hat (75, 76, 107). Diese Vorteile können dann zum Nachteil werden, wenn die stillende Mutter Medikamente einnehmen muß (76). Zunehmende Aufmerksamkeit erfährt deshalb die Frage, inwieweit Arzneimittel, die in der Stillzeit von der Mutter eingenommen werden, vom Säugling via Muttermilch aufgenommen werden und ihn schädigen können (75, 107). Fast alle Arzneimittel gelangen in bestimmten Konzentrationen in die Muttermilch (102). In welcher Menge ein Medikament in die Milch gelangt, ist abhängig von verschie-

denen Faktoren wie dem Konzentrationsgradienten zwischen Blut und Milch, Ionisationsgrad, Molekulargewicht, Fett- und Wasserlöslichkeit, pK_a-Wert der Substanz , Proteinbindung und pH-Differenz zwischen Blut und Milch (1, 75, 76, 102, 107). Bei Leber- oder Nierenschäden der Mutter kann die Brustdrüse zum Ausscheidungsorgan für Medikamente werden (49, 75, 76).

Ob beim gestillten Kind Nebenwirkungen ausgelöst werden, ist nicht nur von der Konzentration des Medikamentes in der Milch, sondern auch von der Trinkmenge, der individuellen Empfindlichkeit und besonderen pharmakokinetischen Situation des Neugeborenen (im speziellen Frühgeborenen) abhängig (75, 76). Bei Neugeborenen, deren Resorptions-, Metabolisierungs- und Ausscheidungsvorgänge noch unreif sind, besteht auch schon bei kontinuierlicher Aufnahme geringer Arzneimittelkonzentration die Gefahr der Akkumulation (34, 75, 77). Flüssigkeits- und damit Verteilungsräume für Medikamente (größer) sowie Eliminationshalbwertzeit (verlängert) differieren beträchtlich gegenüber denen Erwachsener (34, 77, 79). Z. B. werden in der Literatur Halbwertzeiten des Theophyllins für Frühgeborene zwischen 15 und 50 Stunden (77), für reife Neugeborene bis zu 29 Stunden (79) und für Erwachsene mit ca. 4 Stunden angegeben (76, 78).

Werden Medikamente in so großen Mengen aufgenommen, daß sie Bilirubin aus seiner Eiweißbindung verdrängen, wodurch die SBK abfällt, so verstärkt sich die Gefahr eines Kernikterus.

Seit ca. 20 Jahren besteht an der FU Kinderklinik in Berlin eine Zucht von Gunn Ratten. Homozygote Tiere weisen aufgrund eines genetisch fixierten UDP-Glucuronyltransferase-Mangels eine lebenslange Erhöhung des indirekten Bilirubins auf. Sie gelten als geeignetes Tiermodell zur Klärung therapeutischer und pathogenetischer Fragestellungen auf dem Gebiet der Hyperbilirubinämie und des Kernikterus (5, 44, 108).

Mit dieser Arbeit soll versucht werden nachzuweisen, ob Medikamente, die an lactierende Gunn Ratten verabreicht werden,

von saugenden Rattenbabies in so großen Mengen aufgenommen werden, daß es zu einer signifikanten Verdrängung von Bilirubin aus der Albuminbildung mit Abfall der SBK kommt und dadurch ein Kernikterus verstärkt wird.
Folgende Medikamente wurden verabreicht:
a) Sulfadimethoxin (Madribon^{R})
b) Co - trimoxazol (Bactrim^{R})
c) Isonicotinsäurehydrazid (Isozid^{R})
d) Acetylsalicylsäure (Aspirin^{R}, Aspisol^{R})
Es war bekannt, daß bei direkter Injektion von 50 mg/kg Madribon^{R} an junge Gunn Ratten eine Senkung der SBK darzustellen war (87). Bactrim^{R} wurde gewählt, weil es das zur Zeit meist gebrauchte Antibiotikum ist. Die Sulfonamidkomponente in Cotrimoxazol entspricht dem Gantrisin^{R} (44). Von Acetylsalicylsäure und Isonicotinsäurehydralazid war bekannt, daß sie in merklichen Mengen in die Muttermilch sezerniert werden (11, 48, 61, 75, 101).

II. Material und Methoden

A. Gunn Ratten

Gunn Ratten (G.R.) sind nach ihrem Erstbeschreiber C.H. Gunn benannt (35). Sie stammen von der Wistar-Ratte ab und sind durch Mutation aus diesem Stamm hervorgegangen. G.R. haben einen genetisch bedingten UDP-Glucuronyl-Transferasemangel, welcher sich in einem nicht-hämolytischen Ikterus manifestiert. Der Enzymmangel wird entweder autosomal rezessiv oder dominant vererbt (44, 108).

Das nichtwasserlösliche, indirekte Bilirubin wird durch das in der Leberzelle lokalisierte Enzym in Bilirubindiglucuronid umgewandelt (Konjugationsreaktion), dadurch wasserlöslich und via Galle ausgeschieden. Findet eine Konjugation nicht statt, reichert sich das indirekte Bilirubin im Organismus an. Im Serum wird Bilirubin an Albumin gebunden. Wird die Bindungs-

kapazität des Albumins überstiegen, diffundiert Bilirubin z. B. ins Gehirn und wirkt dort zytotoxisch.

Heterozygote G.R. haben im Vergleich zu normalen Wistar-Ratten eine verminderte Enzymaktivität. Bei ihnen findet man kein erhöhtes Serum-Bilirubin, da die Enzymaktivität zur Konjugation und Elimination ausreicht. Man kann sie schon kurz nach der Geburt von homozygoten G.R. anhand ihrer Hautfarbe unterscheiden. Heterozygote haben keine ikterische Hautfarbe, während homozygote Tiere schon nach wenigen Stunden eine gelbe Hautfarbe bekommen.

Bei homozygoten G.R. ist die Aktivität der UDP-Glucuronyltransferase sehr gering (44), wodurch eine lebenslange unkonjugierte Hyperbilirubinämie entsteht (2, 44, 45). Diese entspricht beim Menschen dem Crigler-Najjar-Syndrom. Nach Untersuchungen von Johnson findet man bei homozygoten G.R. 2 Std. nach Geburt eine Serumbilirubinkonzentration von 2 mg/dl, nach 12 Std. von 6 mg/dl. Der Höhepunkt wird am 16. Lebenstag mit 11,5 mg/dl erreicht. Mit ca. 1 Monat erreichen die Tiere ein konstantes Niveau von 6,0 - 6,5 mg/dl, welches dem erwachsener homozygoter Tiere entspricht (44, 45).

Aufgrund der bei homozygoten G.R. auftretenden Hyperbilirubinämie entwickelt sich bei diesen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Bilirubinenzephalopathie. Bei ungefähr 70 % ist innerhalb der ersten 21 Lebenstage ein Kernikterus nachweisbar, an deren Folgen etwa die Hälfte stirbt (45).

B. Medikamente

Sulfadimethoxin (Madribon^{R})

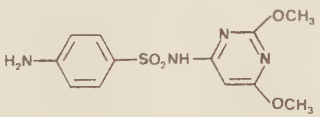
Sulfadimethoxin=SDM (2,4-Dimethoxy-6-sulfanil-amino-1,3-diazin) ist ein synthetisch hergestelltes Chemotherapeutikum. Es enthält als Stabilisator Na-Pyrosulfit, Diäthanolamin und NaOH (87). SDM gehört mit seiner Halbwertzeit (HWZ) von 40 Std. zu den Langzeitsulfonamiden (31). Nach oraler Gabe werden Sulfonamide

zu 80 bis 100 % resorbiert (93). Die maximale Serumkonzentration wird zwischen 2 und 8 Std. erreicht, da die Resorptionsgeschwindigkeit vom Typ der Sulfonamide abhängig ist. Sulfonamide verteilen sich im gesamten Organismus, sie diffundieren erleichtert in entzündetes Gewebe (31).

SDM wird im Blut bis zu 98 % an Albumin gebunden (31, 51). Der nicht an Albumin gebundene Teil liegt in freier Form, in acetylierter Form und an Glucuronsäure gebunden vor. Die antibakteriellen Eigenschaften gehen bei diesen Konjugationen, die an der aromatischen Aminogruppe (N^4) stattfinden, verloren. Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich mit dem Urin, der Rest mit dem Fäzes. Im Urin erscheint es als freies unverändertes Sulfonamid, als Acetylderivat und Glucuronid (93). In der Niere wird SDM glomerulär filtriert und teilweise tubulär sezerniert. Freies Sulfonamid kann tubulär rückresorbiert werden. Die Ausscheidung von SDM ist verzögert, da bis zu 85 % in den Nierentubulie rückresorbiert werden (93). Die Applikationsform der Wahl ist die orale Gabe; in Ausnahmefällen auch intravenös.

Dosierung:	mittlere Tagesdosis	maximale
Erwachsene:	0,5 g (initial doppelte Dosis)	1,0 g
Kinder 6-12 Jahre	0,37 g "	0,5 g
1-6 Jahre	0,25 g "	0.25 g
0-1 Jahr	0,06-0,12 g "	0,12 g (93)

LD_{50}: (große Ratten p.o.) 4000 mg/kg (3)
pKa-Wert: 6 (42)
Strukturformel:



Co - trimoxazol (Bactrim^R)

Co - trimoxazol ist ein Kombinationspräparat aus Trimethoprim=TMP (2,3-Diamino-5 (3,4,5-trimethoxybenzyl) -pyrimidin) und Sulfamethoxazol=SMZ (N^1-(5-Methyl-isoxazol-3yl)sulfanilamid). Die Komponenten liegen im Verhältnis 1:5 vor. Eine Ampulle (5 ml)

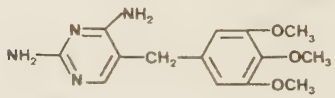
Co-trimoxazol enthält 80 mg TMP und 400 mg SMZ sowie 50 mg Benzylalkohol als Lösungsvermittler (31, 40, 93). Der pH-Wert der Lösung liegt bei 9-9,6 (40). Die Resorption ist nach oraler Gabe nahezu vollständig. Maximale Blutspiegel werden nach ca. 1-4 Std. erreicht (93). Die Gewebeverteilung für beide Substanzen ist unterschiedlich; der Übergang in die Muttermilch wird mit 125 % der Plasmakonzentration für TMP und mit 10 % für SMZ angegeben (13, 40). TMP wird im Plasma zu 45 % an Eiweiß gebunden. Die HWZ wird mit 8-12 Std. angegeben. Die Elimination erfolgt vorwiegend renal. SMZ hat eine Eiweißbindung von 65 - 70 %. Es erfolgt keine gegenseitige Verdrängung durch TMP und umgekehrt. Die HWZ liegt zwischen 8 und 11 Std. (31, 79, 93). Mit dem Urin werden ca. 50 % TMP und 20 % SMZ unverändert als aktive Substanz ausgeschieden, der Rest in inaktiver Form als glucuronidierte Metaboliten (13).
Die Applikation erfolgt p.o. als Tablette oder Sirup, aber auch i.v. als Infusion oder i.m. als Injektion möglich.
Standarddosierung bei

Erwachsenen:	2 x tgl.	160 mg TMP	und 800 mg SMZ	
Kindern: 2-5 Monate	2 x tgl.	20 mg TMP	und 100 mg SMZ	
6-12 Monate	2 x tgl.	40 mg TMP	und 200 mg SMZ	
2-5 Jahre	2 x tgl.	40 mg TMP	und 200 mg SMZ	
6-12 Jahre	2 x tgl.	80 mg TMP	und 400 mg SMZ	(40)

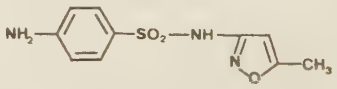
Molekulargewicht:	TMP 290,32	SMZ 253,29	(40)
pKa-Wert:	TMP ca. 7,3	SMZ 5,8 - 6,1	(40)
LD_{50}: Maus (p.o.)	TMP 2000 mg/kg	SMZ 5000 mg/kg	
	TMP/SMZ 4200 mg/kg		(40)

Strukturformel:

TMP



SMZ



Isonikotinsäurehydrazid (Isozid^{R})

Isoniktonsäurehydrazid=IHN ist ein wasserlösliches, synthetisch hergestelltes Chemotherapeutikum. Eine Tablette enthält entwe-

der 50-, 100- oder 200 mg INH. Die Eiweißbindung wird zwischen 20 und 30 % angegeben (31, 82, 93). INH wird nach oraler Gabe sehr gut innerhalb von 1-2 Std. resorbiert (93). Es dringt in alle Körperflüssigkeiten ein (51). Die Gewebeverteilung liegt zwischen 50 und 100 % der Serumkonzentration (31). Die Angaben über die Konzentration von INH in der Muttermilch schwanken in der Literatur zwischen bis zu 50 % bis mehr als 100 % der korrespondierenden Plasmakonzentration (11, 75, 82, 101, 107). Bedingt durch einen genetisch fixierten Mechanismus (Schnell- und Langsam-Inaktivierer) - in der europäischen Bevölkerung im Verhältnis 1 : 1 verteilt - liegt die HWZ für INH zwischen 1 und 3 Std. (81, 82, 93). Leberfunktionsstörungen verlängern die HWZ. Dieser genetisch bedingte Mechanismus beeinflußt auch die Serumkonzentration. So werden 1-2 Std. nach INH-Applikation bei Schnell-Inaktivierern im Serum um 30-40 % niedrigere Serumspiegel gefunden als bei Langsam-Inaktivierern (60, 93).
Die Metabolisierungsrate ist relativ hoch. IHN wird hauptsächlich zu Azetyl-IHN verstoffwechselt. Weitere Metaboliten sind Isonikotinsäure, Isonikotinursäure, Hydrazin und Hydrazonderivate (31, 82, 93). Die Elimination erfolgt vorwiegend durch die Niere; zirka 10 % unverändert, der größte Teil als Azetylierungsprodukt. Geringe Mengen werden mit dem Fäzes ausgeschieden (51, 93). Die Applikationsform ist in der Regel oral, selten intravenös, auch lokale Instillationen kommen in Frage.

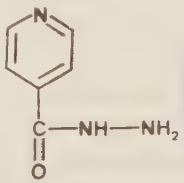
Dosierung:	Erwachsene	3-5 (-10) mg/kg/KG bzw. 200-300 (-600) mg/Tag
	Kinder	10 mg/kg/KG
	Säuglinge	10-12 mg/kg/KG
	im 1. Lebensmonat	5 mg/kg/KG (82, 93)

LD_{50}: (Maus) 232 mg/kg (Ratte) 1620 mg/kg (82)

pKa-Wert: INH hat drei Dissoziationsgleichgewichte

pKs1 = 1,85 ; pKs2 = 3,54 ; pKs3 = 10,77 (82).

Strukturformel:



Acetylsalicylsäure (Aspirin^{R}, Aspisol^{R})

Aspirin^{R}

Eine Tablette Aspirin^{R} enthält 500 mg Acetylsalicylsäure (ASS) (8). ASS ist ein schlecht wasserlösliches Analgetikum, Antipyretikum und Antiphlogistikum (8). Nach oraler Gabe wird ASS nahezu vollständig resorbiert; die maximale Serumkonzentration wird nach ca. 2 Std. erreicht (8, 74). Salicylate verteilen sich schnell in allen Körperflüssigkeiten und Geweben (31). Sie treten in die Muttermilch über. Dosis und HWZ beeinflussen die Menge mit. Die Angaben in der Literatur variieren stark und werden mit einem "kleinen Bruchteil der Plasmakonzentration" (73) mit weniger als 20 % (1) bis zu ca. 50 % (101, 107) der korrespondierenden Plasmaspiegel angegeben.

Nach oraler Gabe können metabolische Veränderungen der ASS bereits bei der Passage der Mucosa des Gastrointestinaltraktes stattfinden. Die Metabolisierung kann auf zwei Wegen stattfinden: Hydrolyse und Acetylierung (8, 74). Quantitativ überwiegt die Hydrolyse. Es entsteht Salicylsäure (SS) und Essigsäure. Die weitere Verstoffwechslung findet in der Leber statt (31) und erfolgt über die Bindung an Glukuronsäure und Glyzin. Der quantitativ wichtigere Weg ist die Bindung an Glyzin; es entsteht Salicylursäure (SU) (74). Dies erfolgt in zwei Stufen: 1. enzymatische Bindung von SS an CoA, 2. die so "aktivierte SS" wird durch ein weiteres CoA auf Glyzin übertragen. Die 1. Stufe ist enzymatisch limitiert, was zur Folge hat, daß bei hohen Konzentrationen von SS infolge Enzymsättigung die Bildung von SU verlangsamt ist, was eine verlängerte HWZ bedeutet (74). Nach i.v.-Applikation ist die HWZ für ASS 15-20 Min. (55,74). Unabhängig von der Applikationsform wird sie für SS nach Gabe "kleiner Dosen" mit 2-3 Std. angegeben (8, 74). Mit zunehmender Dosierung wird die HWZ immer länger (74). Bei hohen Dosierungen bis hin zu Intoxikationen kann sie 15-30 Std. betragen (46, 74).

Die Eiweißbindung für SS (vorwiegend Albumin) wird mit 50-85 % angegeben (8, 46, 77).

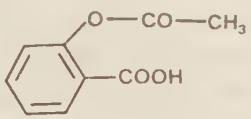
Kurz und Friemel haben die artspezifischen Unterschiede der Proteinbindung für SS untersucht. Sie geben die Eiweißbindung

für Menschen mit 82,1 %, Rind 64 %, Schwein 74,6 %, Hund 53,6 %, Kaninchen 84,9 %, Meerschweinchen 72,4 %, Ratte 60,8 % und Maus 55,4 % an (31).
SS und deren Metaboliten werden fast vollständig renal eliminiert (8); bis zu 70 % als SU, bis zu 20 % als Salicylat-Glucuronid, 1 % als Gentisinsäure, der Rest als freie SS. Wieviel als freie SS ausgeschieden wird, ist vom pH-Wert des Urins abhängig: im alkalischen Urin bis zu 85 %, im sauren Urin ca. 10 % (31, 46).
Die Dosierung ist abhängig von der Indikation.

Schmerzen/Fieber:			
Erwachsene:		max. Einzeldosis	0,25-0,75 g ASS
		max. Tagesdosis bis	3,0 g ASS
Kinder:	(Kleinkind)	max. 65 mg x Anzahl der Lebensjahre	
	(6-12 Jahre)	max. Einzeldosis	0,3 g ASS
		max. Tagesdosis	1,5 g ASS
Rheumatische Erkrankungen:			
Erwachsene:		max. Tagesdosis	4-8 g ASS
Kinder:		initial bis 125 mg/kg/KG	ASS

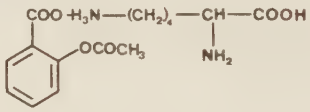
(8, 46)

Summenformel: $C_9 H_8 O_4$ (8)
Molekulargewicht: 180,2 (8)
pKa-Wert: 3,5 (76)
LD_{50}: (Maus i.v.) 1425 mg/kg (9)
Strukturformel:



Aspisol^R
Eine Injektionsflasche Aspisol^R enthält 0,9 g gut wasserlösliches D,L-Lysin-mono- (acetylsalicylat); dies entspricht 0,5 g ASS und als Lösungsvermittler 0,1 g Glycin. Verteilung, Metabolismus, Ausscheidung, Eiweißbindung und HWZ für ASS sind bei

Aspirin^{R} beschrieben.
Als übliche Tagesdosis für Säuglinge und Kinder werden 10 - 25 mg/kg/KG ASS, verteilt auf 2-3 Gaben, angegeben (9). Weitere Dosierungen entsprechen den Angaben unter Aspirin^{R}.
Summenformel: $C_{15}\ H_{22}\ O_6\ N_2$
Molekulargewicht: 326,34
Strukturformel:



C. Versuchsbeschreibung

Als Versuchstiere dienten homozygote und heterozygote Gunn Ratten im Alter von 2-6 Tagen. In Vorversuchen erhielten die jungen Ratten die Medikamente direkt, in den Hauptversuchen bekamen laktierende Rattenmütter die Medikamente appliziert. Durch entsprechende Auflösung der Medikamente wurde eine Volumenüberlastung vermieden. Gewichts-, LD_{50}-, Serumbilirubin- und Hämatokritbestimmungen sowie histologische Kleinhirnuntersuchungen wurden durchgeführt. Während der Versuchsdauer blieben alle Rattenbabies (mit Ausnahme eines Versuches s. Abb. Nr. 14) bei derselben säugenden Mutter. Um eine ausreichende Milchversorgung zu gewährleisten, hatte keine Mutter mehr als 9 Jungtiere zu ernähren. Die Gewichtsentwicklung diente hier als Maß der ausreichenden Laktation. Die Muttertiere waren heterozygote laktierende Ratten. Die Tiere blieben während der Versuchsdauer in einem abgedunkelten Raum. Für ausreichende Wasser- und Futterzufuhr war gesorgt. Vor Gabe des Medikamentes wurden alle Tiere gewogen und gezeichnet; es wurde Ihnen Blut entnommen, um einen Ausgangswert für Bilirubin und Hämatokrit zu bestimmen. Die Blutentnahmen, Hämatokrit- und Bilirubinbestimmungen erfolgten immer in gleicher Weise: es wurde Blut aus dem Schwanz entnommen und sofort in heparinisierten Hämatokritkapillaren aufgefangen. Zur Blutstillung und Infektionsvorbeugung wurde das Schwanzende mit einer erhitzten

Glaskapillare verschorft. Nach 10 Min. Zentrifugieren des Blutes bei 3000 U/Min. (Ecco-Zentrifuge Typ e 2/12) wurde der Hämatokritwert (HKt.) und gleich danach photometrisch die Serum-Bilirubinkonzentration (SBK) bei 461 nm gegen einen Glasfilterstandard von 14,0 mg/dl am American Optical Bilirubinmeter gemessen.

Die Toxizitätstests der Medikamente erfolgten an 2-5 Tage alten Tieren. Es wurde die Konzentration festgestellt, bei der die Hälfte aller Tiere starben = LD_{50} (Methode nach Behrens-Kärber) (10). Die Medikamente wurden per os oder s.c. in steigender Dosierung verabreicht. Die Versuche erstreckten sich über 4 Tage. Jeden Tag erfolgte eine Gewichtsbestimmung.

Die erste Medikamentengabe erfolgte bei Versuchsbeginn (nach 1. Gewichtsbestimmung und 1. Blutentnahme). Die zweite Applikation fand zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt und ist im Text angegeben. Blutentnahmezeiten und anschließende SBK- und HKt.-Bestimmungen variieren bei den einzelnen Versuchsansätzen. In den ersten 24 Std. nach Medikamentengabe wurden je nach Medikament und Versuchsansatz mehrere Messungen durchgeführt. Meßzeitpunkte sind: Ausgangswert vor Applikation = 0, dann nach 30 Min., 1 h, 2 h, 3 h, 6 h, 10 h, 12 h, 18 h und 24 h. Die maximale Anzahl der Blutentnahmen innerhalb von 24 Std. und pro Versuch beträgt fünf. Weitere Messungen erfolgten in 24stündlichen Abständen. Zeitpunkt der Blutabnahmen sind in Abhängigkeit von Halbwertzeit der Medikamente, Häufigkeit der Medikationen und dem möglicherweise zu erwartenden Einfluß auf das Serum-Bilirubin festgelegt worden. Die Gewichtsbestimmungen erfolgten täglich und immer vor der Blutentnahme. Bei einer Gruppe von Tieren wurden Gewichtsbestimmungen vor und nach Blutentnahme durchgeführt. Der längste Beobachtungszeitraum erstreckte sich über 19 Tage.

Vorversuche:

Homozygote Kleintiere bekamen direkt p.o. (mit Magensonde sondiert) folgende Medikamente in den angegebenen Konzentrationen (KG = Körpergewicht).

Madribon^{R}

11 x 5 mg/kg KG täglich in 24 Std.-Abständen
1 x 10 mg/kg KG
2 x 10 mg/kg KG 2. Applikation: 2. Tag nach Versuchsbeginn
1 x 50 mg/kg KG

Bactrim^{R}

1 x 10 mg/kg KG
1 x 100 mg/kg KG

Isozid^{R}

1 x 100 mg/kg KG
1 x 400 mg/kg KG

Aspisol^{R}

1 x 10 mg/kg KG
1 x 80 mg/kg KG
1 x 500 mg/kg KG
1 x 1000 mg/kg KG
1 x 2000 mg/kg KG

Glycin (Lösungsvermittler in Aspisol^{R})

1 x 100 mg/kg KG
1 x 250 mg/kg KG

Aspirin^{R}

1 x 250 mg/kg KG
1 x 500 mg/kg KG
1 x 1000 mg/kg KG

Hauptversuche:

Heterozygote Rattenmütter bekamen folgende Medikamente in den angegebenen Konzentrationen. Mit einer Butterfly-Kanüle wurde eine Schwanzvene punktiert und die Medikamente (a, b und d) langsam i.v. injiziert. Mit einer Magensonde erfolgte die Gabe der Medikamente (c und e) p.o., nachdem die Tabletten in Aqua dest. aufgelöst waren. Pro Medikament und Konzentration habe ich mindestens 2 Versuchsansätze (Ausnahme e - nur ein Versuch) durchgeführt.

a) Madribon^{R} i.v.
2 x 100 mg/kg KG 2. Applikation: 1 x 6. Tag nach Versuchsbeginn
1 x 7. Tag
1 x 300 mg/kg KG
2 x 300 mg/kg KG 2. Applikation: 6. Tag nach Versuchsbeginn

b) Bactrim^{R} i.v.
600 mg/kg KG bei Versuchsbeginn, 400 mg/kg KG 1. Tag danach

c) Isozid^{R} p.o.
2 x 500 mg/kg KG 2. Applikation 2. Tag nach Versuchsbeginn
1 x 1000 mg/kg KG

d) Aspisol^{R} i.v.
1 x 800 mg/kg KG
2 x 800 mg/kg KG 2. Applikation 2. Tag nach Versuchsbeginn
1 x 1000 mg/kg KG
2 x 1000 mg/kg KG 2. Applikation 2. Tag nach Versuchsbeginn

e) Aspirin^{R} p.o.
1 x 2000 mg/kg KG

Von insgesamt 68 homozygoten und 9 heterozygoten, jungen Tieren wurden nach Abschluß der Versuche die Kleinhirne entnommen, um den Grad des Kernikterus zu beurteilen. Das Alter der Tiere bei Gehirnentnahme lag zwischen 12 und 26 Tagen. Durch Dekap-

tierung wurden die Tiere getötet, die Gehirne wurden entnommen und Gesamthirn- sowie Kleinhirngewicht sofort bestimmt. Gleich danach erfolgte das Einfrieren der Kleinhirne in flüssigem Stickstoff, 8-10 y dicke Kryostatschnitte wurden angefertigt und anschließend auf Objektträgern gefärbt. Es wurden histochemische Untersuchungen nach dem von Barka und Anderson (7) beschriebenen Verfahren sowie Färbungen mit Hämatoxilin-Eosin und Cresylviolett durchgeführt. Hanefeld beurteilte die Kleinhirnschnitte nach folgenden Kriterien.

N: normale Zellzahl
\+ leichte Zellzahlverminderung
++ mittelstarke Zellzahlverminderung
+++ starke Zellzahlverminderung

III. Ergebnisse

A: Letalität, Toxizität

Die akute Toxizität (4-Tage-Überlebensrate) wurde an heterozygoten Rattenbabies bestimmt. Die Ergebnisse der Untersuchung wurden in Konzentrations-Letalitätskurven in Abb. 1 graphisch dargestellt. Auf der Ordinate ist der Anteil der verstorbenen Tiere in Prozent dargestellt, auf der Abszisse die Dosierung der Medikamente. Die LD_{50}, d.h. die Konzentration eines Medikamentes, bei der die Hälfte aller Tiere starben, wurde aus den Kurvenverläufen graphisch ermittelt. Dazu wurde bei 50% auf der Ordinate eine Parallele zur Abszisse eingezeichnet. Von den Punkten, wo sich die einzelnen Kurven mit dieser Linie schnitten, wurden Lote auf die Abszisse gefällt und dort die einzelnen Werte abgelesen.

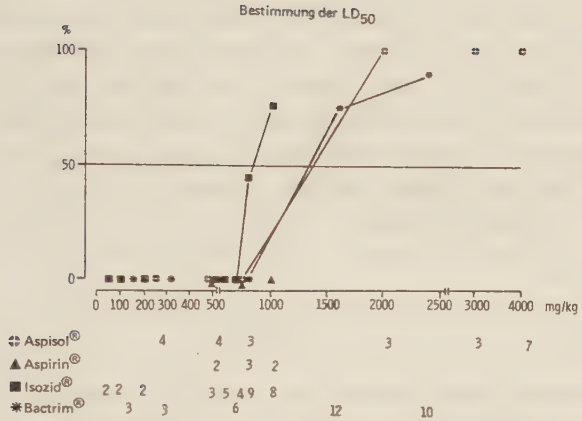


Abb. 1: Dosis-Letalitätskurven von heterozygoten 2-5 Tage alten Gunn Ratten nach Applikation verschiedener Präparate in steigender Konzentration.

Es ergeben sich folgende LD_{50}-Werte:

Bactrim^R	nach s.c. Injektion	1300 mg/kg
Isozid^R	nach p.o. Gabe	850 mg/kg
Aspirin^R	nach p.o. Gabe	> 1000 mg/kg
Aspisol^R	nach p.o. Gabe	1350 mg/kg
Madribon^R	nach s.c. Injektion	1000 mg/kg

Letztere war an entsprechenden Tieren bereits ermittelt (96), so daß auf eine erneute Toxizitätstestung verzichtet werden konnte. Nachdem die akute Toxizität für Aspisol^R getestet war und bei den Versuchen mit Aspirin^R bis zu einer Dosierung von 1000 mg/kg alle Tiere überlebten, wurde auf weitere Durchführung der Tests für Aspirin^R wegen der identischen Wirksubstanz verzichtet.

B: Hämatokrit

Von jeder Blutentnahme wurde vor der Bestimmung des Gesamt-Bilirubins der Hämatokrit (HKt.) gemessen. Es konnte keine gesetzmäßige Zuordnung von unterschiedlichen HKt-Werten zu den Bilirubinkonzentrationen festgestellt werden. Die Schwankungsbreite war insgesamt erheblich. Mit der Anzahl der Blutentnahmen sank der HKt. Wir fanden keinen Hinweis für eine durch Medikamente bedingte Hämolyse.

C: Bilirubin

Es war bekannt aus Beobachtungen bei Frühgeborenen durch Silverman (94) und Reproduktion dieser Beobachtungen durch Johnson (44) am Tier-Modell mit Gunn Ratten, daß es nach Applikation bestimmter Medikamente zu einer erhöhten Kernikterusinzidenz bei Absinken der Serumbilirubin-Konzentration kommen kann. Erklärt wurde dies mit der Verdrängung des albumingebundenen Bilirubins aus seiner Proteinbindung durch die verabreichten Medikamente (62).

In den folgenden Abbildungen sind die Schwankungen der SBK bei jungen homozygoten Gunn Ratten nach Gabe verschiedener Medikamente - in Vorversuchen direkt an die Jungen, in Hauptversuchen an laktierende Rattenmütter- sowie einer Kontrollgruppe ohne Medikamentenapplikation dargestellt.

Um eine bessere Übersicht in den graphischen Darstellungen zu gewähren, wurden meistens nur Mittelwerte der SBK eingetragen. Schwarze ausgezogene Linien stellen die Bilirubin-Kurvenverläufe dar. Für die Anzahl der Tiere, die in die Mittelwertberechnungen eingingen, wird "n" eingesetzt. Die Pfeile (⬇) zeigen den Zeitpunkt an, an dem die Medikamente gegeben wurden. Der auf die Abszisse angegebene Zeitpunkt "0" bedeutet Versuchsbeginn = Bilirubinwert vor der Medikamentengabe. Zu jeder Abbildung findet sich im Anhang eine Tabelle mit Mittel-

wert, Standardabweichung und prozentualer Veränderung vom Ausgangswert.

1. Kontrollversuche

Bei insgesamt 52 4-6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten wurde die SBK 8 Tage lang ohne Medikamentengabe untersucht. Die Abb. 2 zeigt den Kurvenverlauf dieser Kontrolltiere. Auf der Ordinate sind die Mittelwerte der SBK in mg/dl aufgetragen, auf der Abszisse das Alter der Tiere in Tagen.

Es sind dieselben Tiere, die als Kontrolltiere zur Gewichtsbestimmung untersucht wurden. Verbindet man die Mittelwerte des SBK der einzelnen Tage miteinander, so erhält man eine nur wenig ansteigende Linie. Insgesamt steigt die SBK vom 4. Lebenstag von 8,01 mg/dl bis zum 12. Lebenstag auf 8,84 mg/dl, was einer prozentualen Steigerung von 11 % des Ausgangswertes entspricht.

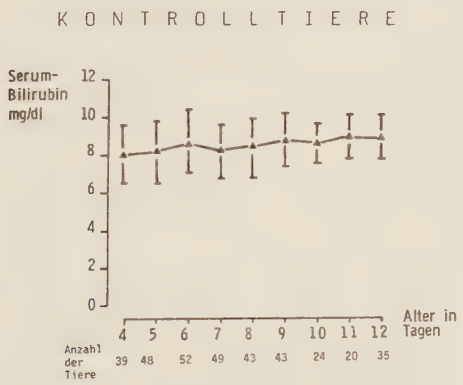


Abb. 2: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4-6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten in mg/dl mit Standardabweichung (I).

Korn (50) hat bei seinen Untersuchungen der SBK junger homozygoter Gunn Ratten als Kontrolltiere ähnliche Ergebnisse erhalten. Er hat die SBK zwischen 5. und 10. Lebenstag untersucht. In diesem Zeitraum stieg das SB bei seinen Tieren um 15 % an. Die Abb. 3 zeigt den Kurvenverlauf aus seiner Arbeit.

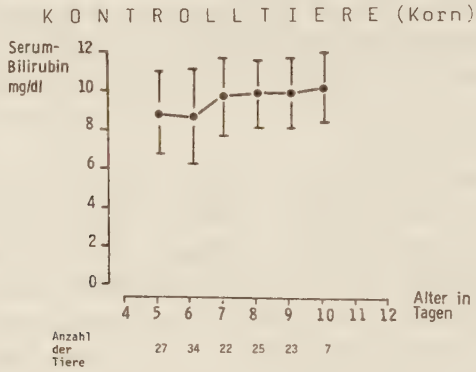


Abb. 3: Durchschnittliche SBK bei 5-10 Tage alten homozygoten Gunn Ratten in mg/dl mit Standardabweichung (I).

Der Unterschied zwischen Korns und meinen Untersuchungen liegt darin, daß er täglich von neuen Tieren mit steigendem Lebensalter die Bilirubinbestimmungen durchgeführt hat. Z. B. von 27 Ratten, die 5 Tage alt waren, dann von 34 anderen Tieren, so daß er insgesamt auf n = 138 kommt. In meinen Versuchen wurde der Verlauf der SBK über mehrere Tage bei denselben 52 Ratten beobachtet. Die SBK wurde am 6. Lebenstag bei allen Tieren, bei einigen täglich und bei den meisten in mehrtägigen Abständen bestimmt. Daher resultieren die unterschiedlichen Angaben für "n" an den einzelnen Tagen. Möglicherweise ist durch die häufigere Blutentnahme bei den einzelnen Tieren in meinen Versuchen der etwas niedrigere Anstieg der SBK gegenüber den Versuchen von Korn zu erklären.

2. Vorversuche

Die Abbildungen 4-11 umfassen die Vorversuche und demonstrieren den Einfluß der direkt an junge homozygote Gunn Ratten applizierten Medikamente auf die SBK dieser Tiere.

Unter der Vorstellung, daß es bei Medikamenteneinnahme einer stillenden Mutter über einen längeren Zeitraum zu einer kontinuierlichen Aufnahme des Medikamentes via Muttermilch durch das Kind kommen kann, wurde zuerst Madribon^{R} in einer Konzentration von 5 mg/kg KG täglich 10 Tage lang an zu Beginn 3 Tage alte homozygote Rattenbabies per os appliziert. Der SBK-Verlauf wurde in 24-Std.-Abständen vor jeder täglichen Medikamentenapplikation kontrolliert. Der Kurvenverlauf Abb. 4 zeigt, ausgehend von einer SBK von 8,8 mg/dl bei Versuchsbeginn, einen kontinuierlichen Abfall der SBK auf ein Niveau von ca. 4 mg/dl.

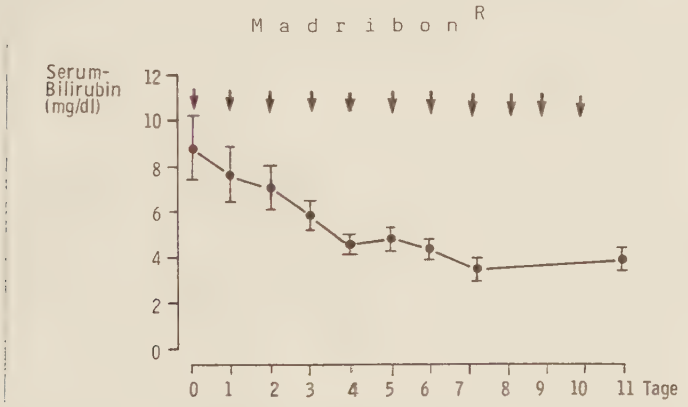


Abb. 4: Durchschnittliche Serumbilirubinkonzentration bei zu Versuchsbeginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten in mg dl mit Standardabweichung (I) bei täglicher Madribon^{R}-Gabe (▼) von 5 mg/kg per os (n=5).

Das folgende Beispiel Abb. 5 zeigt das Verhalten der Bilirubinkonzentration nach oraler Gabe von 10 mg/kg KG Madribon^{R} bei Versuchsbeginn und noch einmal nach 48 Stunden. Blutentnahme und Bilirubinbestimmungen wurden im 24-Std.-Rhythmus durchgeführt. Die SBK bei Versuchbeginn und vor Medikamentengabe liegt bei 10,8 mg/dl. Der Kurvenverlauf zeigt nach 24 Std. einen Abfall auf 8,4 mg/dl und nach 48 Std. und vor der zweiten Madribon^{R}-Gabe 8,3 mg/dl. In den darauffolgenden 24 Std. kam es zu einem weiteren Abfall auf 4,46 mg/dl nach insgesamt 72 Std. 96 Std. nach Versuchsbeginn und 48 Std. nach der zweiten Medikamentengabe war die SBK wieder auf 5,7 mg/dl angestiegen.

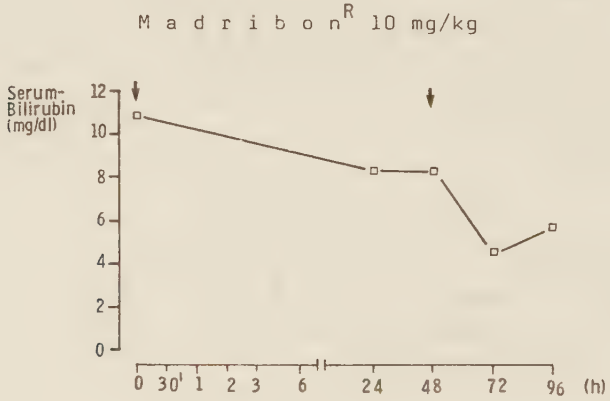


Abb. 5: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3-4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach 2maliger Gabe (⬇) von 10 mg/kg Madribon^{R} per os. (n=7).

In den folgenden Abb. 6 und 7 wird die SBK nach einmaliger Gabe von 10 und 50 mg/kg KG Madribon^{R} p.o. dargestellt, und zwar bei unterschiedlicher Ausgangskonzentration des SB. Die Bilirubinbestimmungen wurden nach 30 Min., 1 h, 2 h, 3 h und 6 h durchgeführt, danach in 24 Std.-Abständen.

Die Kurvenverläufe nach Gabe von 10 mg/kg Madribon^{R} zeigen, daß es bereits nach 30 Min. zu einem deutlichen Abfall der SBK gekommen ist, daß das Serumbilirubin bis 24 bzw. 48 Std. nach Versuchsbeginn weiter auf Werte um 50 % vom Ausgangswert abfällt und auch noch nach 72 bzw. 96 Std. in diesem Niveau liegt.

Nach Gabe von 50 mg/kg Madribon^{R} kommt es - im Vergleich zu 10 mg/kg - zu einem stärkeren Abfall der SBK, auch schon nach 30 Min. Sie sinkt bis zur 24. Stunde bis auf 19 bzw. 13 % des Ausgangswertes ab. Danach steigt das Serumbilirubin bei 24stündlichen Kontrollen wieder an und liegt 72 bzw. 96 Std. nach Versuchbeginn bei 53 bzw. 45 % des Ausgangswertes.

Bei allen oral applizierten Dosierungen zeigt sich, daß es durch Madribon^{R} - abhängig von der Dosis - zu einem mehr oder weniger starken Abfall der SBK kommt, was durch eine Verdrängung des proteingebundenen Bilirubins aus seiner Eiweißbindung erklärt werden kann. Bei besonders hohen Ausgangskonzentrationen ist der absolute Abfall größer als bei niedrigen Ausgangswerten.

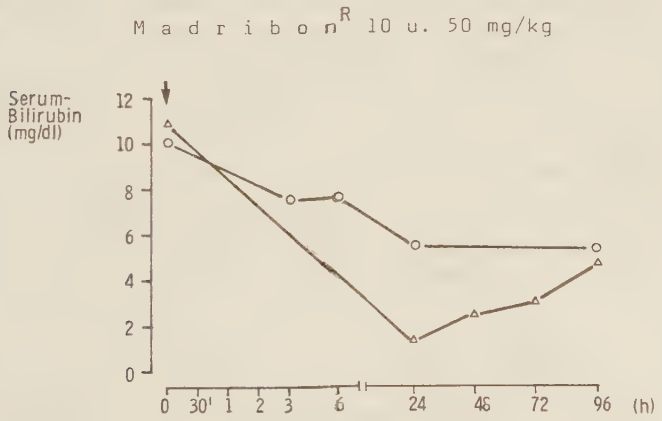


Abb. 6: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3-4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach einmaliger Gabe (⬇) von ○ 10 mg/kg (n=3) und △ 50 mg/kg (n=6, 96 h n=4) Madribon^{R} p.o.

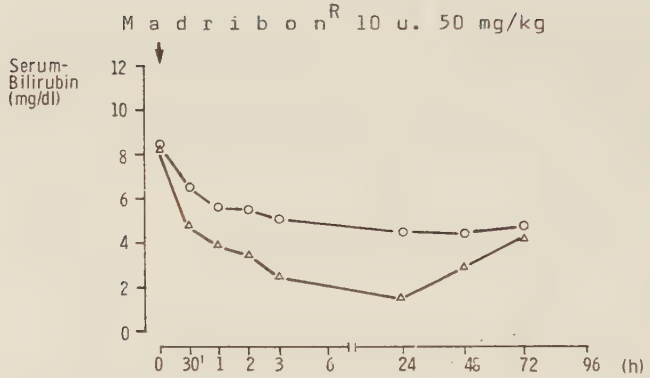


Abb. 7: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach einmaliger Gabe (⬇) von ○ 10 mg/kg (n=4) und △ 50 mg/kg (n=3) Madribon^{R} p.o.

Die Abb. 8 zeigt den Serumbilirubin-Verlauf nach oraler Gabe von 10 und 100 mg/kg KG Bactrim^{R} . Bei vergleichbaren Bilirubinkonzentrationen zu Versuchsbeginn zeigt der Kurvenverlauf nach Gabe von 100 mg/kg einen deutlicheren Abfall. Die SBK war bereits 30 Min. nach Versuchsbeginn abgesunken und lag am niedrigsten nach 1 Std. (nach 10 mg/kg bei 85 % und

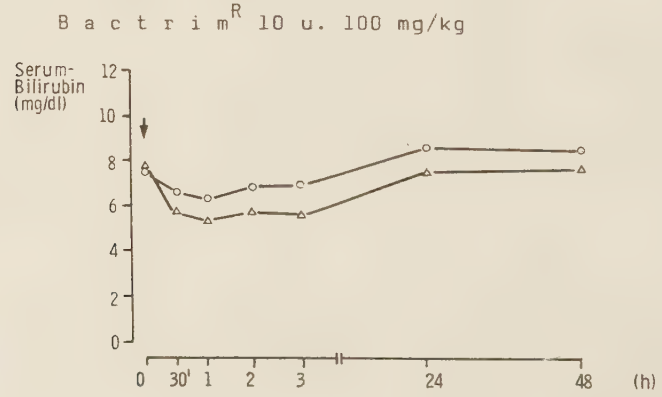


Abb. 8: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach Gabe (⬇) von Bactrim^{R} ○ = 10 mg/kg (n=10), △ = 100 mg/kg (n=10) p.o.

nach 100 mg/kg bei 69 % vom Ausgangswert). Nach 2 bzw. 3 Std. war das SB wieder leicht angestiegen. Bei der niedrigen Bactrim^{R}-Dosierung lag die SBK nach 24 Std. schon 16 % über dem Ausgangswert, während sie bei 100 mg/kg erst nach 48 Std. den Ausgangswert erreicht hatte.

Es scheint bei der höheren Bactrim^{R}-Dosis zu einer stärkeren Verdrängung des proteingebundenen Bilirubins, d.h. zu einem größeren Abfall der SBK und zu einem verlängerten Anhalten dieses Effektes gegenüber der 10 mg/kg-Dosierung zu kommen.

Die Abb. 9 zeigt die Ergebnisse der Vorversuche mit Isozid^{R}. Die Bilirubinkonzentrationen bei Versuchsbeginn lagen zwischen 7,4 und 9,0 mg/dl. Nach 100 mg/kg KG p.o. zeigen die Kurven einen Abfall der SBK nach 30 Min. auf 86 bzw. 89 %. Nach 3 Std. ist der Ausgangswert wieder erreicht. Nach 24 Std. wurde in einem Versuch ein Bilirubinanstieg mit 25 % über dem Ausgangswert gemessen, in einem weiteren Versuch mit gleicher Dosierung betrug der Wert 95 % des Ausgangswertes. Die beiden Kurven zeigen nach 30 Min. und 3 Std. einen nahezu identischen Verlauf. Der Unterschied nach 24 Std. kann durch eine verschiedene Gewichtszunahme der beiden Tiergruppen erklärt werden, worauf im Abschnitt Gewichtsentwicklung näher eingegangen wird. Nach Gabe von 400 mg/kg Isozid^{R} ist die SBK bereits nach 30 Min. deutlicher als bei der niedrigeren Dosis gefallen und zeigt einen weiteren Abfall auf 67 % des Ausgangswertes nach 3 Std.; 24 Std. nach Versuchsbeginn ist das SB auf 14 % über den Ausgangswert angestiegen.

Auch hier zeigt sich - wie bei Bactrim^{R}-, daß es bei höherer Isozid^{R}-Dosierung zu einer stärkeren und länger anhaltenden Verdrängung des proteingebundenen Bilirubins kommt.

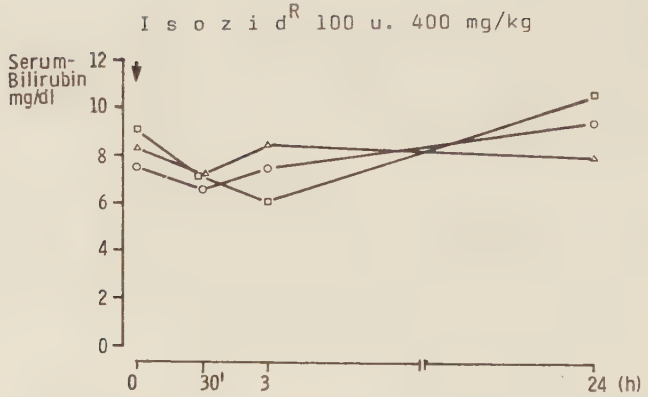


Abb. 9: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3-5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach Gabe (▼) von Isozid^{R} p.o. ○= 100 mg/kg (n=4), △= 100 mg/kg (n=5), □= 400 mg/kg (n=4).

In den folgenden Versuchen Abb. 10 wurde Aspirin^{R} in Dosierungen von 250, 500 und 1000 mg/kg KG direkt an junge homozygote Gunn Ratten p.o. gegeben. Die SBK wurde 30 Min., 3 Std., 24 Std. und 48 Std. nach Versuchsbeginn bestimmt. Die Kurven nach Gabe von 250 und 500 mg/kg zeigen in den ersten 3 Std. einen identischen Verlauf (nach 30 Min. Bilirubinabfall auf 76%, nach 3 Std. auf 75 % des Ausgangswertes). Bei der niedrigen Dosis (250 mg/kg) ist nach 24 Std. das SB auf 9 % über den Ausgangswert gestiegen, während es bei der höheren Dosis (500 mg/kg) nur leicht auf 81 % des Ausgangswertes ansteigt. Nach Gabe von 1000 mg/kg Aspirin^{R} kommt es zu einem stärkeren Abfall. Die SBK lag nach 30 Min. bei 72 %, nach 3 Std. bei 66 % des Ausgangswertes. Nach 24 Std. (66 % vom Ausgangswert) kam es noch nicht zu einem Anstieg des Bilirubins. Nach 48 Std. lag die Bilirubinkonzentration noch 12 % unter dem Ausgangswert.

Es zeigt sich auch hier, daß eine Abhängigkeit von der Dosis zur Bilirubinverdrängung aus der Eiweißbindung besteht. Je höher die Dosis, desto stärker und anhaltender der Bilirubinabfall. Der länger anhaltende Bilirubinabfall bei steigender

Dosierung korreliert mit der in der Literatur beschriebenen länger werdenden Halbwertzeit für ASS bei ansteigender Dosierung (74).

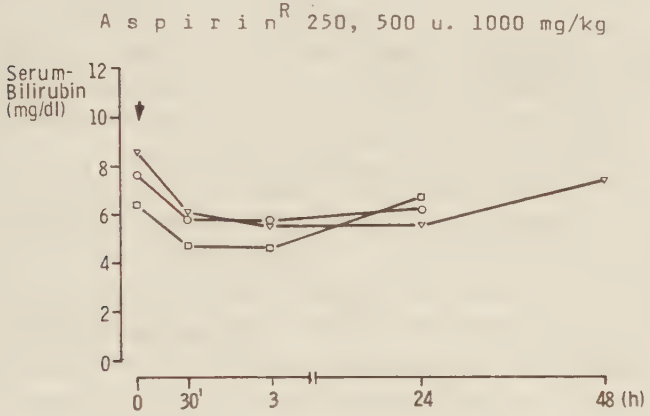


Abb. 10: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach Gabe (↓) von Aspirin^{R} p.o. □ = 250 mg/kg (n=3), ○ = 500 mg/kg (n=5), ▽ = 1000 mg/kg (n=3).

Die Abb. 11 zeigt den Verlauf der SBK nach oraler Applikation von Aspisol^{R} in steigenden Dosierungen (10, 80, 500, 1000 und 2000 mg/kg KG). Die Bilirubinbestimmungen wurden 30 Min.. 1 Std., 2 Std., 3 Std., 24 Std. und 48 Std. nach Versuchsbeginn durchgeführt. Die Bilirubinkonzentrationen lagen bei Versuchsbeginn zwischen 6,99 und 7,75 mg/dl. Die 5 Kurven dokumentieren sehr deutlich die Abhängigkeit des Bilirubinabfalls von der Aspisol-Dosierung. Je höher die Medikamenten-Dosierung, desto stärker ist der Abfall der SBK und desto länger hält er an. Nach 3 Std. z. B. liegt das SB nach 10 mg/kg bei 91 %, nach 80 mg/kg bei 81 %, nach 500 mg/kg bei 41 %, nach 1000 mg/kg bei 27 % und nach 2000 mg/kg bei 6 % des Ausgangswertes. Weitere Zahlen können der Tabelle 12 entnommen werden.

A s p i s o l^{R} 10, 80, 500, 1000 und 2000 mg/kg

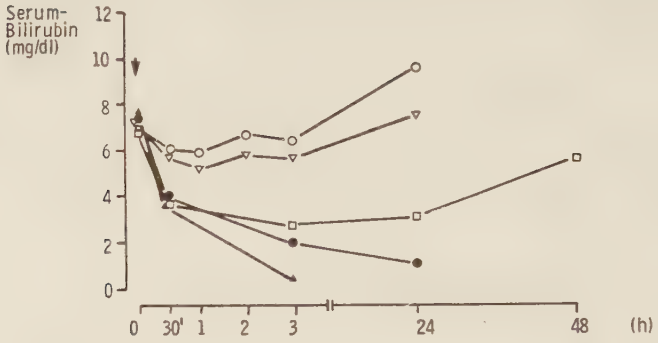


Abb. 11: Durschnittliche SBK zu Beginn 3-4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach Gabe (▼) von Aspisol^{R} p.o. ○ = 10 mg/kg (n=12), ▽ = 80 mg/kg (n=12), □ = 500 mg/kg (n=9), ● = 1000 mg/kg (n=4, ab 24 h n=2), ▲ = 2000 mg/kg (n=4).

3. Hauptversuche

Die Vorversuche hatten gezeigt, daß es bei allen direkt an junge homozygote Gunn Ratten applizierten Medikamenten zu einem Abfall der SBK kam, und daß der Abfall um so stärker war, je höher die Dosierung des Medikamentes gewählt wurde.

In den im folgenden dargestellten Hauptversuchen sollte herausgefunden werden, ob Medikamente, die an die Rattenmütter gegeben werden, via Muttermilch an die jungen Ratten gelangen und dort die SBK und die Kernikterusinzidenz beeinflussen.

Nach den Vorversuchen müßte man erwarten, daß, wenn Medikamente mit der Muttermilch auf die Rattenbabies übergehen, es bei ihnen auch zu einem Abfall der SBK kommen würde.

Die Abb. 12 zeigt den Verlauf der SBK über 14 bzw. 15 Tage bei zu Beginn 3-5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach 2maliger i.v.-Injektion von je 100 mg/kg KG Madribon^{R} an ihre

Mütter. Die beiden Versuchsansätze unterscheiden sich nur darin, daß die 2. Injektion bei der einen Mutter am 6., bei der anderen am 7. Tag nach Versuchsbeginn durchgeführt wurde. Das SB wurde alle 24 Std. bestimmt.
Bei vergleichbaren Bilirubinkonzentrationen zu Versuchsbeginn zeigen die Kurvenverläufe nach der 1. Applikation an den beiden folgenden Tagen einen deutlichen Bilirubinabfall auf jeweils 38 % des Ausgangswertes. Danach steigt die Konzentration bis zur 2. Injektion wieder an; in einem Fall auf 61 % (6. Tag), im anderen Fall auf 91 % (7. Tag) des Ausgangswertes. Nach der 2. Injektion kommt es erneut zu einem deutlichen Abfall des Bilirubins an 2 bzw. 3 darauffolgenden Tagen. Anschließend steigt das SB kontinuierlich an und liegt 14 bzw. 15 Tage nach Versuchsbeginn in Höhe der Ausgangswerte.

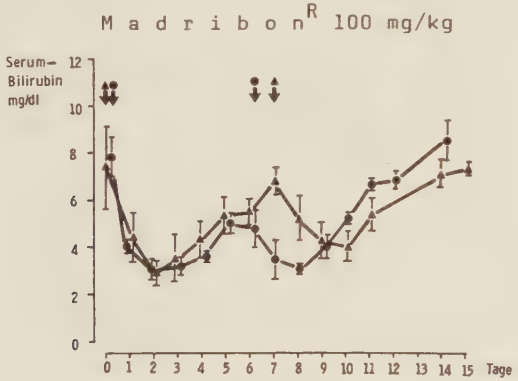


Abb. 12: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3-5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach 2maliger Gabe (▼) von 100 mg/kg Madribon^{R} i.v. an Rattenmütter (● n=4) (▲ n=5).

Die Abb. 13 zeigt das SB an 9 Tagen nach einmaliger i.v.-Gabe von 300 mg/kg Madribon^{R} und an 15 Tagen nach einer zweiten i.v.-Injektion derselben Dosis nach 6 Tagen. Die SBK bei Versuchsbeginn lag zwischen 6,97 und 7,77 mg/dl. In den ersten 6 Tagen zeigen beide Kurven einen nahezu gleichen Verlauf. Es

kommt in beiden Versuchsansätzen zu einem sehr starken Bilirubinabfall bis zum 2. Tag (in beiden Fällen auf 25 % des Ausgangswertes). Die SBK steigt in den darauffolgenden Tagen wieder an: im Versuchsansatz mit einer Injektion kontinuierlich bis auf 7 % unter den Ausgangswert am 9. Tag, im Versuchsansatz mit zweimaliger Applikation bis zur zweiten Medikamentengabe. Hier kommt es in den folgenden 24 Std. erneut zu einem deutlichen Bilirubinabfall, gefolgt von einem kontinuierlichen Anstieg der SBK bis zum 15. Versuchstag auf einen Wert von 11 % über dem Ausgangswert.

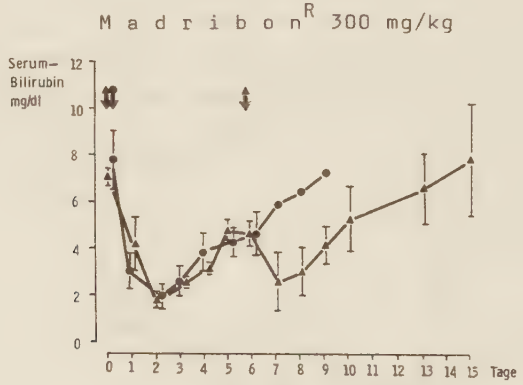


Abb. 13: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach 1maliger ● (n=9, ab Tag 7, n=5) und 2maliger Gabe ▲ (⬇) (n=3) von 300 mg/kg Madribon^{R} i.v. an Rattenmütter.

Im folgenden Versuch Abb.14 wurde der SB-Verlauf 19 Tage lang studiert. Bilirubinbestimmungen wurden alle 24 Std. durchgeführt. Zwischen 6,62 und 7,56 mg/dl lagen die Ausgangsbilirubinwerte. Zwei Rattenmütter hatten 5 bzw. 6 Rattenbabies aufzuziehen. Der Mutter A wurde zu Versuchsbeginn 300 mg/kg Madribon^{R} i.v. injiziert, die zweite Rattenmutter B blieb ohne Medikamente.

Die SBK der jungen homozygoten Gunn Ratten, die von der mit Madribon^{R} behandelten Mutter A aufgezogen wurden, fiel an den

ersten beiden Tagen auf 37 % des Ausgangswertes ab und stieg danach bis zum 6. Tag wieder an. In der zweiten Gruppe, Mutter B ohne Medikamente, stieg die SBK in den ersten Tagen auf 31 % über dem Ausgangswert an und lag nach 6 Tagen um 16 % darüber. Am 6. Tag wurde der Rattenmutter A zum zweiten Mal 300 mg/kg Madribon^{R} i.v. injiziert. Die jungen Ratten wurden umgesetzt, d. h., die Rattenbabies, die bisher von der Mutter A mit Medikament aufgezogen wurden, kamen zur Rattenmutter B, die kein Madribon^{R} erhalten hatte und umgekehrt.

Die Tiere, die nun von der Rattenmutter A ernährt wurden, zeigten in den folgenden 2 Tagen einen sehr starken Abfall der SBK auf 38 % des Ausgangswertes. Danach kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg des SB bis zum 19. Tag. In der anderen Gruppe, die nun bei der Mutter B waren, stieg das Bilirubin nach dem 6. Tag weiter an und lag am 19. Tag 43 % über dem Ausgangswert.

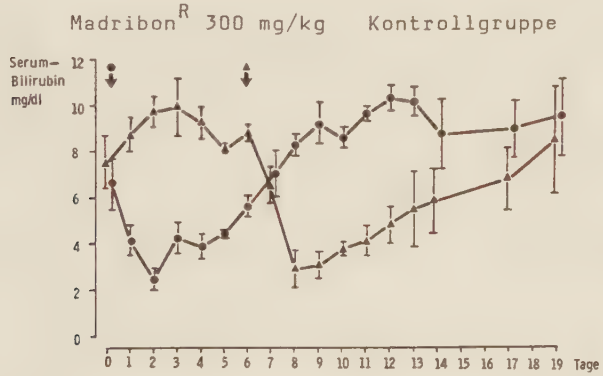


Abb. 14: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I). Einer Rattenmutter A wurde zweimal 300 mg/kg Madribon^{R} i.v. injiziert (⇩), die andere Rattenmutter B erhielt kein Medikament. ▲ bis zum 6. Tag bei Rattenmutter B ohne Medikament, nach dem 6. Tag bei Mutter A mit Madribon^{R} (n=5), ● bis zum 6. Tag bei Rattenmutter A mit Medikament, nach dem 6. Tag bei Mutter B ohne Madribon^{R} (n=6).

In den bisherigen Hauptversuchen mit Madribon^{R} wurden die Bilirubinbestimmungen immer in 24-Std.-Abständen durchgeführt, und es zeigte sich bei beiden Dosierungen (100 und 300 mg/kg) nach 24 Std. ein starker Abfall der SBK. Daraus ergab sich die Frage: wo liegt der Zeitpunkt innerhalb der ersten 24 Std., von dem an es zu einem Abfall des Bilirubins kommt? Die Abb. 15 zeigt Ergebnisse von Kontrollen innerhalb der ersten 24 Std. nach Gabe von 300 mg/kg Madribon^{R} i.v. an Rattenmütter. Bei Versuchsbeginn lagen die Bilirubinkonzentrationen zwischen 7,18 und 7,64 mg/dl. Um zu häufige Blutentnahmen und dadurch Verfälschungen der Ergebnisse zu vermeiden, erschienen 3 Versuchsansätze notwendig.

Die SBK wurden in der ersten Gruppe ○ nach 3, 6, 24, 48 und 120 Std. bestimmt. Das Bilirubin stieg bis zur 6. Std. an, nach 24 und 48 Std. war es zu einem deutlichen Abfall gekommen, der noch bis zu 120 Std. anhielt.

In der zweiten Gruppe △ wurde nach 3, 6, 10, 12 und 24 Std. Bilirubinbestimmungen durchgeführt. Es kam bis zur 10. Std. zu einem Anstieg der SBK. Nach 12 Std. war das Bilirubin leicht, nach 24 Std. deutlich abgefallen. Berücksichtigen muß man bei diesem Versuchsansatz, daß durch die in Relation zu den beiden anderen Versuchen häufigen Blutentnahme am 1. Tag es zu einer längeren Trennung von der Mutter kam und dadurch weniger Zeit zur Milch- und evtl. Medikamentenaufnahme bestand. Möglicherweise ist der Zeitpunkt des Einflusses auf das SB dadurch in dieser Kurve etwas nach rechts verschoben.

In der Gruppe 3 □ wurde nach 12, 18, 24, 48 und 120 Std. das SB bestimmt. Es zeigt sich nach 12 Std. ein Abfall der SBK um 20 %. Er setzt sich kontinuierlich bis zur 48. Std. fort und erreicht 34 % des Ausgangswertes. Nach 120 Std. ist das Bilirubin wieder leicht angestiegen.

Man kann nach diesen Ergebnissen davon ausgehen, daß der Abfall der SBK bei jungen homozygoten Gunn Ratten ungefähr 10 Std. nach Gabe von 300 mg/kg Madribon^{R} an laktierende Rattenmütter erkennbar wird.

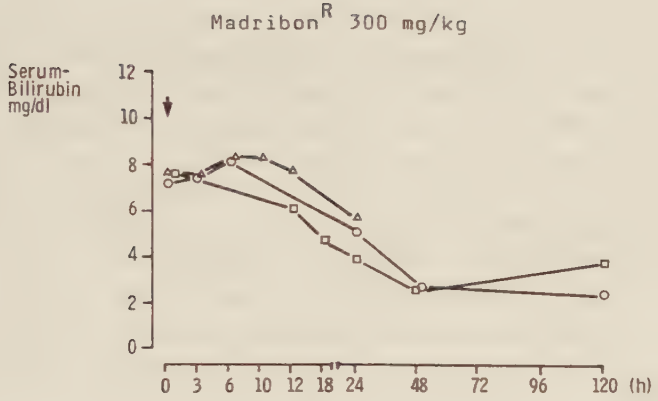


Abb. 15: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3-4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach einmaliger Gabe (↓) von 300 mg/kg Madribon® i.v. an laktierende Rattenmütter (○ n=4, 120 Std. n=3) (△ n=9), (□ n=6).

Vergleicht man den SB-Abfall nach der 100 mg-Dosis (Abb. 12) mit der 300 mg-Dosis (Abb 13, 14, 15), so sieht man bei beiden einen deutlichen Abfall, der jedoch bei der höheren Dosis größer ist. Der Abfall des SB kann hier, wie bei den Vorversuchen, mit der Verdrängung des proteingebundenen Anteils des Bilirubins aus seiner Eiweißbindung erklärt werden. Daraus, daß an Rattenmütter appliziertes Madribon® einen SB-Abfall bei jungen Ratten bewirkt, kann geschlossen werden, daß es zu einem Übergang des Medikamentes in die Muttermilch gekommen ist. Über die Höhe der Medikamentenkonzentration, die mit der Milch auf die Rattenbabies überging, kann keine konkrete Aussage getroffen werden. Dazu wäre eine Bestimmung der Konzentration in der Milch erforderlich, was nicht möglich war, da von den Rattenmüttern keine ausreichenden Mengen an Milch gewonnen werden konnten. Legt man die Kurven der Vorversuche zugrunde, so kann man schließen, daß es zwischen 10 und 50 mg/kg pro Rattenbaby gewesen sein dürften.

Die Abb. 16 zeigt den Verlauf der SBK bei anfangs 3-4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach zweimaliger i.v.-Injektion

von Bactrim^{R} an ihre Mütter. Bei Versuchsbeginn wurden 600 mg/kg und 24 Std. später 400 mg/kg injiziert. Vorgesehen waren Bilirubinmessungen 3 Std. nach Medikamentengabe und dann in 24stündlichen Abständen. Bei beiden Versuchsansätzen wurde nach der ersten Injektion keine Bilirubinbestimmung nach 3 Std. durchgeführt, da die Rattenmütter - stark irritiert durch die Injektion - ihre Rattenbabies zunächst nicht säugten, und es somit auch zu keinem Medikamentenübergang kommen konnte.
Ausgehend von einer unterschiedlichen SBK bei Versuchsbeginn - 8,16 gegenüber 5,06 mg/kg -, die zum Teil durch den Altersunterschied der Tiere und mit unterschiedlichen Anfangsgewichten (s. Abb. 40) erklärt werden kann, kommt es im ersten Versuch am 2. Tag zu einem Anstieg auf 9,62 mg/dl, gefolgt von einem Absinken auf das Ausgangsniveau. Insgesamt steigt das SB während der gesamten Versuchsdauer leicht auf 8,5 mg/dl an.
Im zweiten Versuchsansatz stiegt das Bilirubin von einem niedrigeren Ausgangsniveau kontinuierlich auf 8,35 mg/dl an. Die

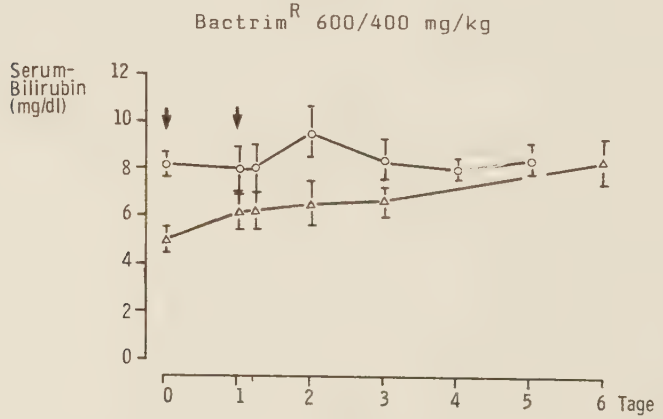


Abb. 16: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn ○= 4 Tage, △= 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach zweimaliger Gabe (⬇) von Bactrim^{R} i.v. an laktierende Rattenmütter. Bei Versuchsbeginn 600, 1 Tag danach 400 mg/kg (○ n=5), (△ n=7). Die Markierung (ı) auf der Abszisse zwischen 1 und 2 bedeutet 3 Std. nach zweiter Injektion.

SBK 3 Std. nach der zweiten Bactrim^{R}- Injektion unterscheidet sich bei beiden Versuchen nicht von der davor. Man kann hier keine direkte Beeinflussung des SB bei den jungen Ratten nach i.v.-Gabe von Bactrim^{R} an die Rattenmütter erkennen.

Auf den folgenden 4 Abb. (17, 18, 19, 20) ist der SB-Verlauf bei zu Beginn 4-6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach zweimaliger oraler Applikation (bei Versuchsbeginn und 2 Tage danach) von je 500 mg/kg Isozid^{R} an laktierende Rattenmütter dargestellt. Alle Versuche dauerten 8 Tage.

Im ersten Beispiel, Abb 17, wurden Bilirubinbestimmungen alle 24 Std. durchgeführt. Ausgehend von einer SBK von 8,86 mg/dl kommt es zunächst zu einem leichten Anstieg (9,59 mg/dl) des SB, gefolgt von einem Abfall auf 8,21 mg/dl am 8. Tag.

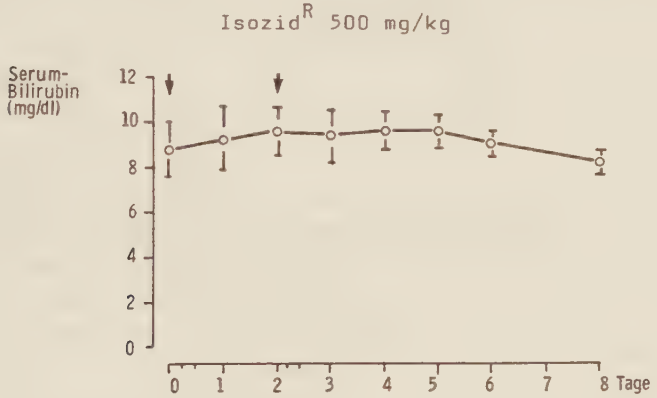


Abb. 17: Durchschnittliche SBK bei anfangs 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach zweimaliger Gabe (⬇) von 500 mg/kg Isozid^{R} p.o. an laktierende Rattenmütter (n=8).

Bei den drei folgenden Versuchen, Abb. 18-20, wurden jeweils 3 und 6 Std. nach jeder Medikamentengabe sowie alle 24 Std. das SB bestimmt. Innerhalb der ersten 3 Tage kommt es in allen 3 Versuchsansätzen zu einem deutlichen Anstieg der SBK. 8 Tage nach Versuchsbeginn liegen die Bilirubinkonzentrationen leicht über dem Ausgangswert. In den Abschnitten Gewichtsentwicklung und Diskussion wird näher auf die Ursachen dieses Kurvenverlaufes eingegangen.

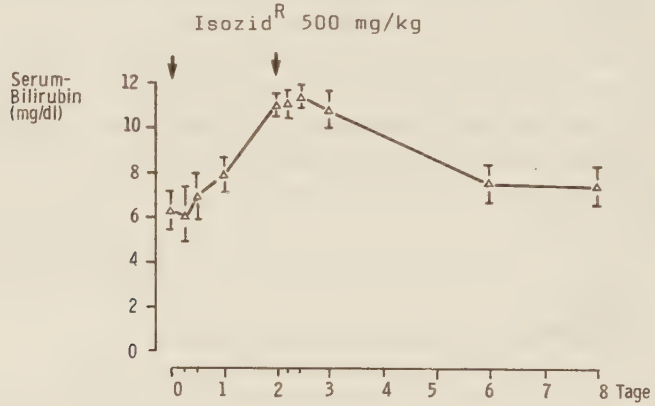


Abb. 18: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach zweimaliger Gabe (▼) von 500 mg/kg Isozid® p.o. an laktierende Rattenmütter (n=6). Die Markierungen (▾▾) auf der Abszisse zwischen 0 und 1, 2 und 3 bedeuten 3 und 6 Std. nach jeder Applikation.

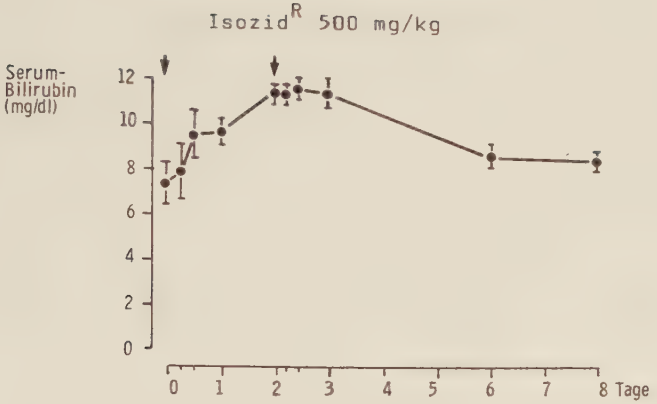


Abb. 19: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach zweimaliger Gabe (⬇) von 500 mg/kg Isozid® p.o. an laktierende Rattenmütter (n=4). Die Markierungen (‹›) auf der Abszisse zwischen 0 und 1, 2 und 3 bedeuten 3 und 6 Std. nach jeder Applikation.

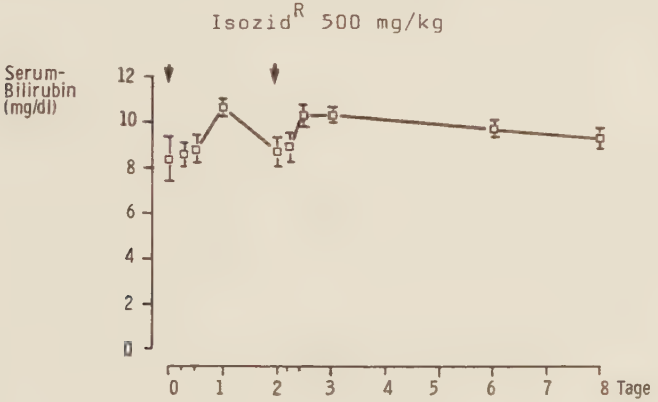


Abb. 20: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach zweimaliger Gabe (⬇) von 500 mg/kg Isozid® p.o. an laktierende Rattenmütter (n=4). Die Markierungen (‹›) auf der Abszisse zwischen 0 und 1, 2 und 3 bedeuten 3 und 6 Std. nach jeder Applikation.

Wegen der kurzen Halbwertzeit für Isozid^{R} (1-3 Std.) und mit den in Vorversuchen erzielten Ergebnissen könnte man, wenn es zu einem Übergang des Medikamentes mit der Muttermilch auf die jungen Ratten kommt, in den ersten drei Std. einen SB-Abfall erwarten. Um einen möglicherweise - durch die Irritation der Rattenmütter - verzögert liegenden Übergang des Isozid^{R} zu erfassen, wurden in den nachfolgend dargestellten Versuchen innerhalb der ersten 10 Std. nach oraler Medikamentengabe mehrere Ansätze mit unterschiedlichen Dosierungen und Bilirubinbestimmungen zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt.

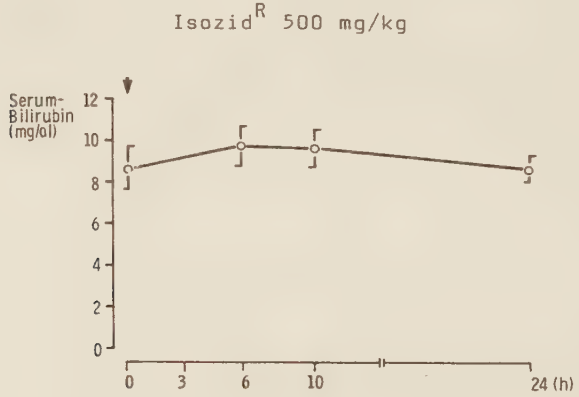


Abb. 21: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach einmaliger Gabe (▼) von 500 mg/kg Isozid^{R} p.o. an laktierende Rattenmütter (n=7).

Die Abb. 21 zeigt den SB-Verlauf bei jungen homozygoten Gunn Ratten 6, 10 und 24 Std. nach 500 mg/kg Isozid^{R} p.o. an eine Rattenmutter. Es kommt 6 und 10 Std. nach Versuchsbeginn zu einem diskreten Anstieg des Bilirubins, nach 24 Std. besteht

wieder das Ausgangsniveau mit 8,65 mg/dl.

In zwei Versuchsansätzen wurden p.o. 1000 mg/kg Isozid^{R} (Abb. 22) gegeben. Einmal wurde nach 10, 24 und 48 Std. das SB bestimmt. Es kommt zu einem deutlichen Anstieg bereits nach 10 Std. bis zur 24. Std., gefolgt von einem leichten Abfall nach 48 Std.
Im zweiten Versuch wurde nach 2, 3, 24 und 48 Std. das SB gemessen. Nach 2 Std. ist das Bilirubin minimal, nach 3 Std. etwas mehr, 24 und 48 Std. nach Versuchbeginn deutlich angestiegen.
Den unterschiedlichen Verlauf der Kurven zwischen 24 und 48 Std. kann man aus der differenten Gewichtsentwicklung in diesem Zeitabschnitt erklären. Weiteres siehe Kapitel: Korrelation Bilirubin/Gewicht.

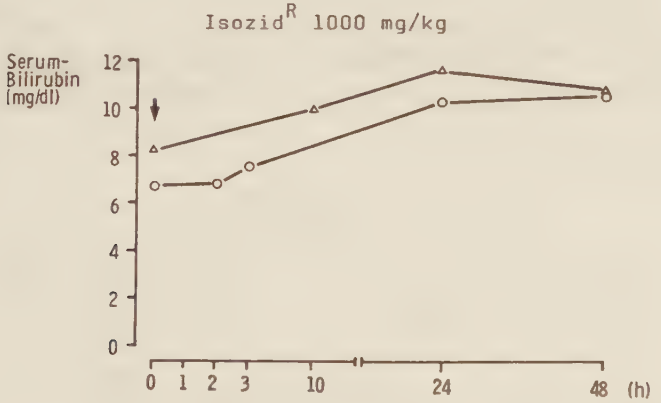


Abb. 22: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach einer Gabe (⬇) von 1000 mg/kg Isozid^{R} p.o. an laktierende Rattenmütter (○ n=7) (△ n=6).

Die folgenden Darstellungen zeigen den SB-Verlauf bei anfangs 3-4 Tage alten homozyogten Gunn Ratten nach i.v.-Injektion von Aspisol^{R} an laktierende Rattenmütter. Nach 1maliger Injektion von 800 mg/kg Aspisol^{R} (Abb. 23) wurden in 24-Stunden-Abständen SB-Bestimmungen durchgeführt. Das SB schwankt in den ersten

4 Versuchstagen wenig um den Ausgangswert von 7,9 mg/dl. Vom 4. Tag an kommt es zu einem diskreten Anstieg und die SBK liegt bei Versuchsende nach 8 Tagen bei 8,93 mg/dl.

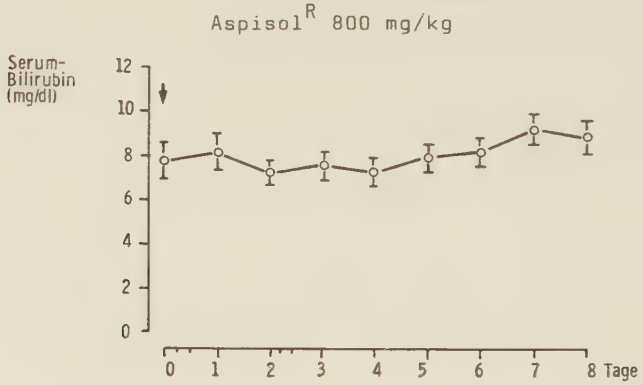


Abb. 23: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach einmaliger Gabe (↓) von 800 mg/kg Aspisol® i.v. an laktierende Rattenmütter (n=7).

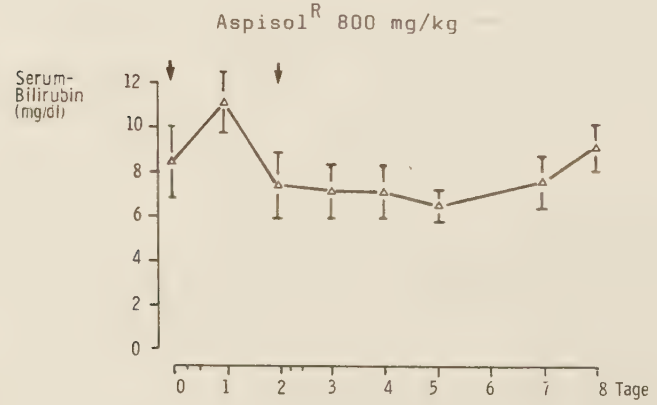


Abb. 24: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger Gabe (↓) von 800 mg/kg Aspisol® i.v. an laktierende Rattenmütter (n=8).

Die Abb. 24 zeigt das SB nach zweimaliger i.v.-Applikation von je 800 mg/kg Aspisol^{R} zu Versuchsbeginn und 2 Tage danach. Die SBK wurde alle 24 Std. bestimmt. Nach der ersten Injektion kommt es zu einem deutlichen Anstieg von 8,4 auf 11,06 mg/dl innerhalb von einem Tag. Nach weiteren 24 Std. ist die SBK wieder auf 7,4 mg/dl gefallen. Nach der zweiten Injektion kommt es zu einem kontinuierlichen, aber diskreten Abfall des SB bis zum 5. Versuchstag, gefolgt von einem Anstieg während der nächsten Tage auf 9,19 mg/dl.

Die nächsten beiden Darstellungen zeigen den Verlauf des SB nach 2maliger i.v.-Injektion von je 1000 mg/kg Aspisol^{R}. Im ersten Beispiel (Abb. 25) wurde alle 24 Std. das SB bestimmt. 1 Tag nach der ersten Medikamentengabe kommt es zu einem sehr starken Anstieg des SB von 7,17 - auf 11,2 mg/dl. 24 Std. später liegt das Bilirubin bei 9,99 mg/dl. 24 Std. nach der 2. Injektion kommt es zu einem erneuten Anstieg auf 11,14 mg/dl und 1 Tag danach wurde ein Abfall auf 8,41 mg/dl gemessen. In den folgenden 4 Tagen kommt es insgesamt zu einem leichten SB-Abfall auf 7,67 mg/dl.

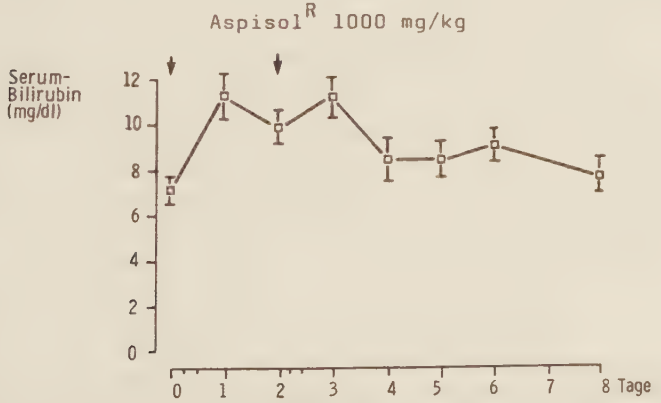


Abb. 25: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger Gabe (↓) von 1000 mg/kg Aspisol^{R} i.v. an laktierende Rattenmütter (n=7).

Im zweiten Beispiel (Abb. 26) wurden die SB-Bestimmungen jeweils 3 Std. nach i.v.-Applikation von Aspisol^{R} sowie alle 24 Std. durchgeführt. 3 Std. nach der ersten Injektion ist das Bilirubin diskret von 6,54 auf 6,73 mg/dl, 24 Std. danach sehr stark auf 11,51 mg/dl angestiegen. Am zweiten Tag liegt es bei 10,66 mg/dl. 3 Std. nach der zweiten Injektion kam es zu einem diskreten Abfall auf 9,97 mg/dl, gefolgt von einem erneut deutlichen Anstieg auf 11,8 mg/dl ein Tag nach der zweiten Medikamentenapplikation. Das Bilirubin ist am 4. Versuchstag auf 7,49 mg/dl gefallen und bleibt bis zum Versuchsende auf diesem Niveau.

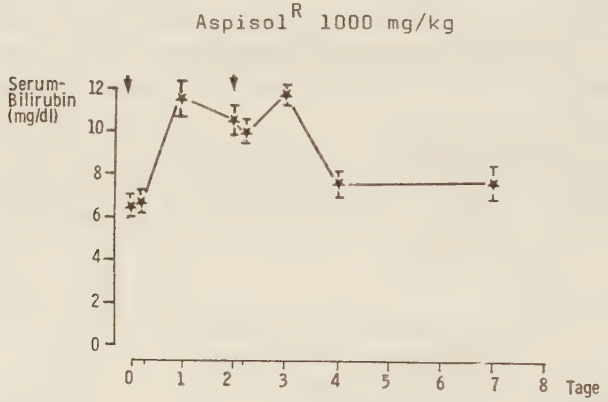


Abb. 26: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger Gabe (↓) von 1000 mg/kg Aspisol^{R} i.v. an laktierende Rattenmütter (n=7). Die Markierungen (ı) auf der Abszisse zwischen 0 und 1, 2 und 3 bedeuten 3 Std. nach jeder Applikation.

Im nächsten Versuch (Abb. 27) wurde das SB 3, 6 und 24 Std. nach einmaliger Gabe von 1000 mg/kg Aspisol bestimmt. Ausgehend von einer SBK von 7,41 mg/dl kommt es nach 3 Std. zu einem kaum merklichen Abfall, gefolgt von einem leichten Anstieg nach 6 Std. Nach 24 Std. ist das Bilirubin deutlich auf 13,84 mg/dl angestiegen. Weiteres siehe: Korrelation Bilirubin/Gewicht.

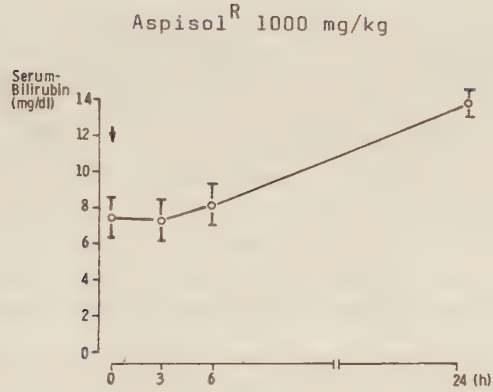


Abb. 27: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach einmaliger Gabe (⬇) von 1000 mg/kg Aspisol^{R} i.v. an laktierende Rattenmütter (n=8).

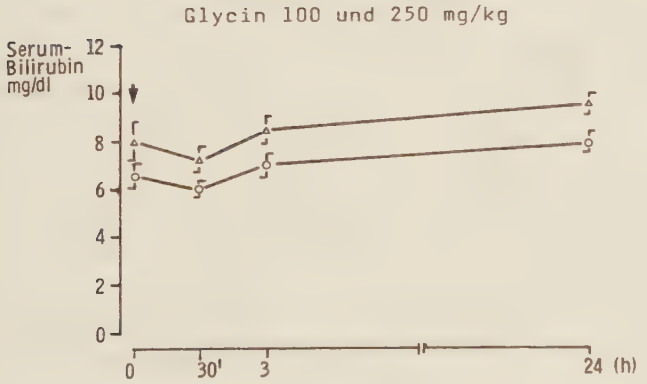


Abb. 28: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach einmaliger Gabe (⬇) von Glycin p.o. ○ 100 mg/kg Glycin (n=4) entsprechend 1000 mg/kg Aspisol^{R}, △ 250 mg/kg Glycin (n=7) entsprechend 2500 mg/kg Aspisol^{R}.

Bei einem Übergang von Aspisol^{R} mit der Muttermilch auf die Rattenbabies müßte man nach den Vorversuchen einen Abfall des SB in Abhängigkeit von der Dosierung erwarten. Um den in den vorstehenden Abbildungen dargestellten z. T. sehr deutlichen Anstieg der SBK zu erklären, wurde noch der Lösungsvermittler von Aspisol^{R} = Glycin direkt an junge homozygote Gunn Ratten p.o. appliziert (Abb. 28). Die Dosierung entspricht im ersten Versuchsansatz der Menge, in der 1000 mg/kg Aspisol^{R}, im zweiten Versuch der Menge, in der 2500 mg/kg Aspisol^{R} gelöst sind.

SB-Bestimmungen wurden 30 Min., 3 und 24 Std. nach oraler Gabe durchgeführt. Nach 30 Min. war das SB leicht abgefallen, was mit einer Verdünnung des Serums erklärt werden kann, gefolgt von einem ebenfalls leichten Anstieg nach 3 Stunden. 24 Std. nach Versuchsbeginn lag das Bilirubin 18 bzw. 19 % über dem Ausgangswert. Der Verlauf der SBK liegt insgesamt innerhalb der Streubreite der Kontrolltiere, was darauf schließen läßt, daß Glycin keinen Einfluß auf die SBK hat.

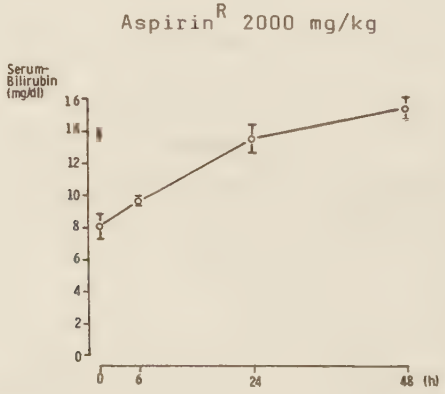


Abb. 29: Durchschnittliche SBK bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten mit Standardabweichung (I) vor und nach einmaliger Gabe (▼) von 2000 mg/kg Aspirin^{R} per os (n=4).

Die Abb. 29 zeigt den Verlauf der SBK bei 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach einmaliger Gabe von 2000 mg/kg Aspirin^{R}. Der Ausgangswert des Bilirubins liegt bei 8,17 mg/dl. Das SB war kontinuierlich bei jeder Bestimmung angestiegen und lag nach 48 Std. bei 15,25 mg/dl. Weiteres siehe Kapitel: Korrelation Bilirubin/Gewicht.

D. Gewichte

Gewichtsbestimmungen wurden von jedem Tier durchgeführt. Die Wägungen wurden je nach Versuchsansatz stündlich, täglich oder in mehrtägigen Abständen vorgenommen. Einerseits diente dies der Kontrolle der ausreichenden Laktation, auf der anderen Seite konnten Wachstumsstörungen, die aufgrund der Medikamentenapplikation und die dadurch entstandene Irritation der Rattenmütter und -babies auftraten, erfaßt werden. Im Gegensatz zu den Bilirubin-Kurven wurde der Gewichtsverlauf mit unterbrochenen Linien dargestellt. Auf der Abszisse wurde das Alter der Tiere in Tagen, auf der Ordinate das Gewicht der Tiere in Gramm aufgetragen.

1. Kontrollversuche

Es sind dieselben Tiere, die als Kontrolltiere zur Bilirubinbestimmung untersucht wurden. Die Abb. 30 zeigt die Mittelwerte mit Standardabweichung des Gewichtsverhaltens von 52 jungen homozygoten Gunn Ratten vom 4. - 15. Lebenstag. Am 6. Lebenstag wurden von allen Tieren die Gewichte bestimmt, sonst in täglichen oder mehrtägigen Abständen.

Die im Vergleich zur SB-Verlaufskurve unterschiedliche Anzahl der Tiere am 10. und 11. Lebenstag kommt dadurch zustande, daß bei einigen Tieren an diesen Tagen Gewichts-, aber keine Bilirubinbestimmungen durchgeführt wurden. Ausgehend von einem durchschnittlichen Gewicht von 8,18 g am 4. Lebenstag neh-

men die Tiere täglich an Gewicht zu und wiegen am 15. Lebenstag im Mittel 23,51 g. Die mittlere tägliche Gewichtszunahme betrug vom

		Vergleichswerte Korn
4.- 5. Lebenstag	0,98 g	0,92 g
5.- 6.	1,19	1,07
6.- 7.	1,20	2,04
7.- 8.	0,98	1,87
8.- 9.	1,53	1,26
9.-10.	1,55	1,65
10.-11.	0,99	-
11.-12.	1,21	-
12.-13.	1,81	-
13.-14.	2,28	-
14.-15.	1,59	-

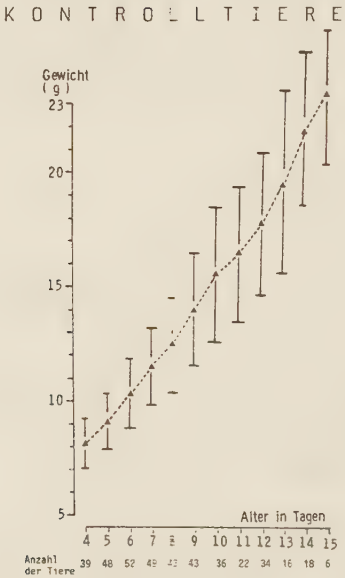


Abb. 30: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung mit Standardabweichung (I) bei jungen homozygoten Gunn Ratten.

Die von Korn an einer größeren Anzahl von Tieren ermittelte Gewichtszuwachskurve ist in folgender Abbildung dargestellt.

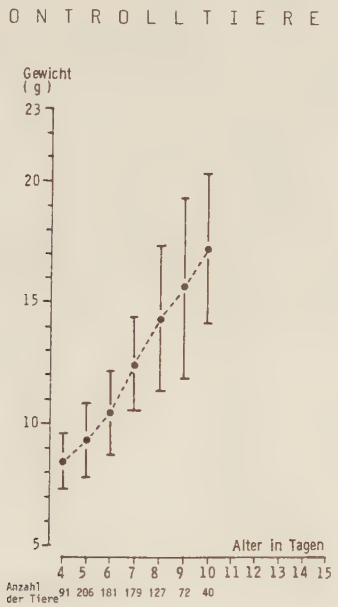


Abb. 31: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung mit Standardabweichung (I) bei jungen homozygoten Gunn Ratten nach Korn.

Vergleicht man die Kurven miteinander, so sieht man eine kontinuierliche, aber nicht ganz lineare tägliche Gewichtszunahme in beiden Reihen sowie eine mit dem Alter zunehmende Streubreite der errechneten Werte für die Standardabweichung vom Mittelwert. Für den vergleichbaren Zeitraum zwischen 4. und 10. Lebenstag kommt es in Korns Untersuchung insgesamt zu größerer Gewichtszunahme, wobei ein deutlicher Unterschied zwischen 6. und 8. Lebenstag liegt. Korn hat neben einer festen Kontrolltiergruppe Gewichtsbestimmungen von Tieren in seine Gewichtsverlaufskurve einbezogen, welche später für andere Versuche eingesetzt wurden. Dadurch erhält er eine Aussage über eine größere Anzahl von Tieren und eine Gruppe von

Tieren, die keinen Störeinflüssen wie Blutentnahme und dadurch längere Trennung und evtl. Irritationen von Rattenmutter und Jungtieren ausgesetzt waren. Bei allen von mir als Kontrolltiere untersuchten Ratten wurden mehrmals Gewicht und Bilirubin bestimmt. Daß die Blutentnahmen das Gewicht beeinflussen, sollen folgende Wägungen an 9 Ratten unmittelbar vor und nach den 2 Blutentnahmen zur SBK-Bestimmung zeigen.

	vor(g)	nach(g)	vor(g)	nach (g)
1.	8,80	8,69	8,95	8,87
2.	8,90	8,83	9,28	9,17
3.	8,18	8,09	8,15	8,08
4.	8,55	8,42	8,78	8,73
5.	10,65	10,53	10,87	10,80
6.	9,27	9,19	9,19	9,13
7.	9,89	9,66	9,78	9,69
8.	10,83	10,76	11,05	10,97
9.	8,25	8,16	8,42	8,39

mittlere Gewichtsabnahme

0,11 g 0,07 g

Inwieweit und welchen genauen Einfluß eine mögliche Irritation und Trennung von Mutter und Jungtieren durch die Blutentnahme im Vergleich zur ausschließlichen Wägung hat, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Nach den oben vorgestellten Untersuchungen scheint die Gewichtsentwicklung negativ beeinflußt zu werden. Wegen der größeren Anzahl der Tiere und dadurch objektivieren Aussagen sowie des Ausfallens negativer Einflüsse habe ich die von Korn ermittelte Wachstumskurve als zu erwartende Gewichtsentwicklung in den folgenden Darstellungen zugrunde gelegt.

2. Vorversuche

Die nächsten Darstellungen zeigen die Gewichtsentwicklung von jungen homozygoten Gunn Ratten, die die Medikamente direkt appliziert bekamen (Vorversuche).
In der Abb. 32 sind die Gewichtskurven der Vorversuche mit Madribon^{R} dargestellt. Die Kurve der Tiere, die täglich 5 mg/kg Madribon^{R} erhielten (▼), beginnt bei einem niedrigen Anfangsgewicht und behält den Abstand zur Normalkurve (●) in etwa während der Beobachtungsperiode bei. Bei regelrechten Ausgangsgewichten nehmen die Tiere, die 1mal (△) oder 2mal (○)

Madribon^{R} 5, 10 und 50 mg/kg * Kontrollgruppe

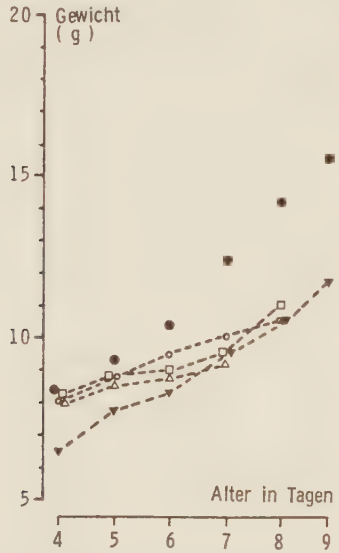


Abb. 32: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten, die Madribon^{R} per os erhalten haben. ▼ täglich 5 mg/kg (n=5), ○ 2x10 mg/kg am Tag 4 und 6 (n=7), △ 1x10 mg/kg am Tag 4 (4. und 5. Tag n=7, 6. und 7. Tag. n=4), □ 1x50 mg/kg am Tag 4 (4.-6. Tag n=9, 7. Tag n=8, 8. Tag n=4) ● Normaltiere siehe Abb. 31.

10 mg/kg oder 1mal (□) 50 mg/kg Madribon^{R} erhalten haben, langsamer an Gewicht zu als zu erwarten (●), so daß mit zunehmendem Alter der Abstand der Gewichtskurven gegenüber der Kontrollgruppe ohne Medikament immer größer wird. Insgesamt läßt sich folgern, daß es nach der direkten Gabe von Madribon^{R} an junge Tiere zu einem deutlich langsameren Wachstum kommt.

Die Abb. 33 zeigt den Gewichtsverlauf der Vorversuche mit Bactrim^{R}. Die Kurve der Tiere, die 10 mg/kg erhalten haben, unterscheidet sich nicht von der Kurve der Tiere, die 100 mg/kg bekamen und beide laufen parallel zur Normaltierkurve. Hier kam es - zumindest für den beobachteten Zeitraum von 2 Tagen - zu keiner Beeinflussung der Gewichtsentwicklung.

Bactrim^{R} 10 u. 100 mg/kg * Kontrollgruppe

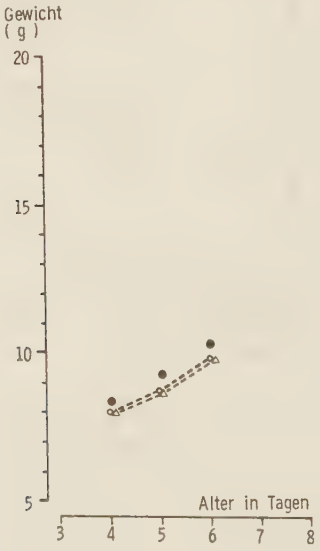


Abb. 33: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten, die Bactrim^{R} per os erhalten haben. ○ 10 mg/kg (n=10), △ 100 mg/kg (n=10) ● Normaltiere siehe Abb. 31.

Die Abb. 34 zeigt den Gewichtsverlauf der Vorversuche mit Isozid^{R}. Die 1. Gruppe der Tiere (o), die 100 mg/kg bekam, zeigt im Wachstum keine Beeinträchtigung; die Gewichtskurve verläuft parallel und in gleicher Höhe zu der Normaltierkurve. Die 2. Gruppe, die 100 mg/kg erhielt (▵), zeigt im beobachteten Zeitraum eine etwas größere Gewichtszunahme als die Normaltiere und die Tiere der 1. Gruppe auf, was sich möglicherweise auf die SBK (niedrigeres SB nach 24 Std.) auswirkt (siehe Abb. 9). Die Tiere, die 400 mg/kg Isozid^{R} erhielten (▫), sind von Anfang an leichter und zeigen eine deutliche Minderung der Gewichtsentwicklung. Zwischen 3. und 4. Lebenstag kommt es zu einem Gewichtsabfall (s. auch Abb. 55). An den beiden folgenden

Isozid^{R} 100 u. 400 mg/kg * Kontrollgruppe

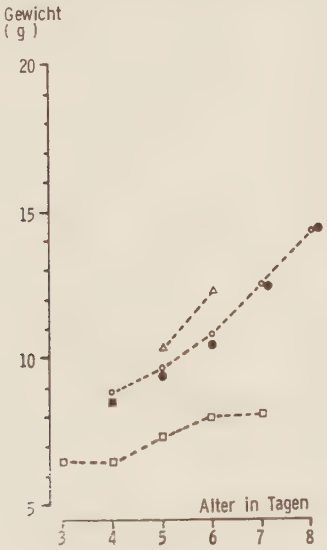


Abb. 34: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 3-5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten, die Isozid^{R} per os erhalten haben. o 100 mg/kg (n=4), ▵ 100 mg/kg (n=5), ▫ 400 mg/kg (n=4), ● Normaltiere siehe Abb. 31.

Tagen verläuft die Gewichtskurve nahezu parallel zur Normaltierkurve, jedoch auf einem niedrigeren Gewichtsniveau und zwischen 6. und 7. Lebenstag kommt es zur Stagnation des Wachstums. Insgesamt scheinen die Tiere, die die hohe Isozid^{R}-Dosis erhielten, in ihrem Wachstum negativ beeinflußt zu werden.

In der Abb. 35 ist der Gewichtsverlauf der Vorversuche mit Aspirin^{R} dargestellt. Die Kurven der Tiere, die 250, 500 oder 1000 mg/kg erhielten, unterscheiden sich kaum voneinander; sie verlaufen nahezu parallel. Insgesamt kommt es bei allen drei Dosierungen - ausgehend von wenig erniedrigten Anfangsgewichten - zu einem leicht verlangsamten Wachstum gegenüber der

Aspirin^{R} 250, 500 und 1000 mg/kg * Kontrollgruppe

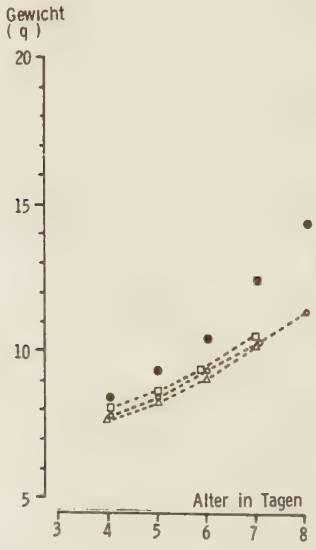


Abb. 35: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten, die Aspirin^{R} per os erhalten haben. ○ 250 mg/kg (n=3), △ 500 mg/kg (n=5), □ 1000 mg/kg (n=3). ● Normaltiere siehe Abb. 31.

Normaltiergruppe (●), was sich in einem von Tag zu Tag größer werdenden Abstand der 3 Gewichtskurven der Tiere mit Medikament gegenüber der Kurve der Tiere ohne Medikament ausdrückt.

Die folgende Abb. 36 zeigt das Gewicht in den Vorversuchen mit Aspisol^{R}. Die Tiere, die 10 mg/kg (○), 80 mg/kg (△) und eine Gruppe, die 500 mg/kg (◇) erhielten, zeigen eine etwas verlangsamte Gewichtszunahme gegenüber den Tieren, die keine Medikamente bekamen (●). Bei der zweiten Gruppe der Tiere, die

Aspisol^{R} 10, 80, 500 u. 1000 mg/kg * Kontrollgruppe

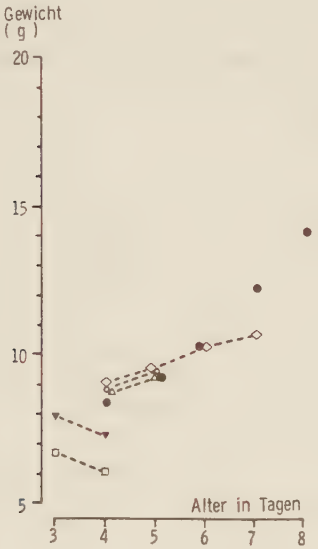


Abb. 36: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 3-4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten, die Aspisol^{R} per os erhalten haben.

○ 10 mg/kg (n=12), △ 80 mg/kg (n=12),

◇ 500 mg/kg (4. und 5. Tag n=6, 6. und 7. Tag n=4),

□ 500 mg/kg (n=3), ▼ 1000 mg/kg (n=2),

● Normaltiere siehe Abb. 31.

500 mg/kg (□) und den Tieren, die 1000 mg/kg (▼) Aspisol^{R} erhielten (siehe auch Abb. 54), kommt es zu einem deutlichen Gewichtsabfall. Insgesamt scheint das Wachstum der Tiere durch Aspisol^{R} negativ beeinflußt zu werden.

3. Hauptversuche (Madribon^{R} und Bactrim^{R})

Die Gewichtsentwicklung von jungen homozygoten Gunn Ratten aus den Hauptversuchen, in denen die Medikamente den Rattenmüttern appliziert wurden, werden in den nächsten Abbildungen dargestellt.

Madribon^{R} 100 mg/kg * Kontrollgruppe

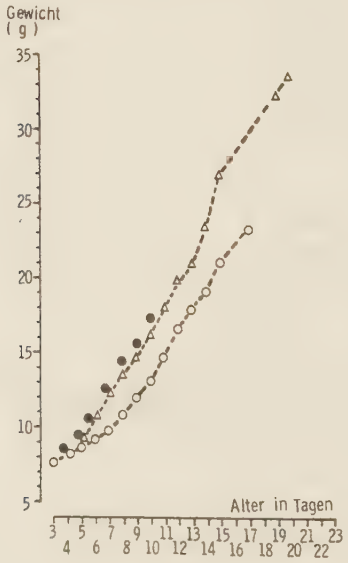


Abb. 37: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 3 und 5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach 2maliger i.v.-Injektion von je 100 mg/kg Madribon^{R} an laktierende Rattenmütter. (○ n=4), (△ n=5). ● Normaltiere siehe Abb. 31.

Die Abb. 37 zeigt den Gewichtsverlauf der Tiere nach 2maliger i.v.-Injektion von je 100 mg/kg Madribon^{R} an laktierende Rattenmütter. Bei dem ersten Versuche (○) bekam die Rattenmutter bei Versuchsbeginn und 6 Tage später je 100 mg/kg injiziert; die jungen Ratten waren bei Versuchsbeginn 3 Tage, bei der 2. Injektion 9 Tage alt. Der Kurvenverlauf zeigt bis zum 10. Lebenstag ein verzögertes Wachstum, was sich dadurch ausdrückt, daß der Abstand zur Normaltierkurve (●) täglich größer wird. Nach dem 10. Tag verläuft die Kurve steiler, so daß man eine Wachstumssteigerung gegenüber dem ersten Zeitraum erkennen kann.
Im zweiten Versuch (△) wurde der Rattenmutter je 100 mg/kg bei Versuchsbeginn und 7 Tage später injiziert; die jungen Ratten waren 5 bzw. 12 Tage alt. Die Gewichtskurve verläuft nahezu parallel zur Normaltiergruppe (●). In diesem Versuch scheint es zu keiner negativen Beeinflussung der Gewichtsentwicklung gekommen zu sein.

Die Abb. 38 zeigt den Gewichtsverlauf der Tiere nach 1maliger i.v.-Injektion von je 300 mg/kg Madribon^{R} an die Rattenmütter. Die jungen Ratten waren bei Versuchsbeginn 4 Tage alt. In beiden Versuchsgruppen kommt es zwischen 5. und 6. Tag zu einer etwas geringeren Gewichtszunahme als in der Normaltiergruppe (●). Die Kurve der Tiere, die durch das (△)-Symbol dargestellt sind, verläuft sonst parallel zur Normaltierkurve. In der anderen Gruppe (○) kommt es auch zwischen 7. und 8. Tag zu einem geringeren Wachstum im Vergleich zur Kontrollgruppe. Zu einer wesentlichen Wachstumsbeeinträchtigung ist es auch hier nicht gekommen.

Madribon^{R} 300 mg/kg * Kontrollgruppe

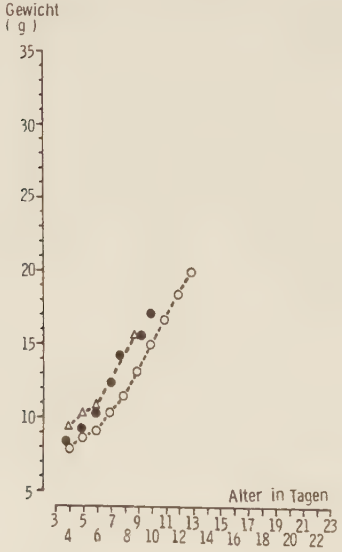


Abb. 38: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach 1maliger i.v.-Injektion von je 300 mg/kg Madribon^{R} an laktierende Rattenmütter. (○ 4.-10. Tag n=9, 11.-13. Tag n=5), (△ n=9).
● Normaltiere siehe Abb. 31.

In der Abb. 39 ist das Gewicht von anfangs 3 und 4 Tage alten Tieren nach 2maliger i.v.-Injektion von je 300 mg/kg Madribon^{R} an die Rattenmütter dargestellt. Die Injektionen wurden bei Versuchsbeginn und 6 Tage später vorgenommen. Im ersten Beispiel (○) waren die Tiere bei Versuchsbeginn 4 Tage, bei der 2. Injektion 10 Tage alt. Ausgehend von einem vergleichbaren Gewicht bei Beginn, wird der Abstand der Kurve zur Normaltierkurve (●) von Tag zu Tag größer, was auf ein verlangsamtes Wachstum dieser Tiere hindeutet.
Die Tiere im nächsten Versuchsansatz (△ , □) waren zu Beginn 3 Tage alt, bei der zweiten Injektion an die Rattenmütter 9 Tage alt. Eine Rattenmutter A bekam bei Versuchsbeginn und

6 Tage später je 300 mg/kg Madribon^{R}, die zweite B bekam kein Medikament während des gesamten Versuches. Die erste Gruppe von Jungen (△) wurde vom 3. Tag bis zum 9. Tag von der Rattenmutter gesäugt, die Madribon^{R} injiziert bekam, vom 9. Tag bis zum Versuchsende von der Rattenmutter B, die kein Medikament erhalten hatte. Umgekehrt die zweite Gruppe (□) in den

Madribon^{R} 300 mg/kg * Kontrollgruppe

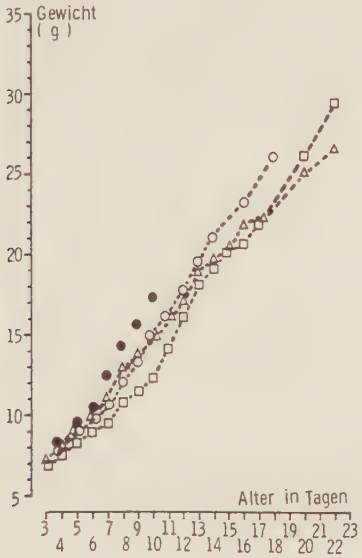


Abb. 39: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 3 und 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach 2maliger i.v.-Injektion von je 300 mg/kg Madribon^{R} an laktierende Rattenmütter. (○ n=3), ● Normaltiere s. Abb. 31, (△ vom 3. bis 9. Tag bei Rattenmutter A, die Madribon^{R} bekam, vom 9. Tag an bei Rattenmutter B ohne Medikament (n=6), (□ vom 3. bis 9. Tag bei Rattenmutter B, die kein Medikament bekam, vom 9. Tag bei Rattenmutter A mit Madribon^{R} (n=5).

ersten 6 Tagen von der Rattenmutter B und vom 9. Tag von der Rattenmutter A. In der 2. Gruppe kommt es bis zum 10. Tag zu einer geringeren Gewichtszunahme, verglichen mit der 1. Gruppe. Danach nehmen diese Tiere stärker zu als die der ersten Gruppe, was sich in einer steileren Wachstumskurve ausdrückt, und bei Versuchsende haben sie ein höheres Gewicht als die der ersten Gruppe.
Vergleicht man beide Gruppen miteinander, so scheinen abweichend von den bisherigen Darstellungen die jungen Ratten dann stärker zu wachsen, wenn sie von der Rattenmutter A, die Madribon^{R} injiziert bekam, gesäugt wurden.
Insgesamt zeigt sich aber in allen 3 Kurvenverläufen eine etwas niedrigere Gewichtszunahme als dies bei Normaltieren (●) ohne Medikamentengabe an die Rattenmütter zu erwarten wäre.

Die Abb. 40 zeigt den Gewichtsverlauf bei jungen homozygoten Gunn Ratten nach 2maliger i.v.-Injektion von Bactrim^{R} an laktierende Rattenmütter. Die 1. Injektion von 600 mg/kg wurde bei Versuchsbeginn, die 2. von 400 mg/kg nach 24 Std. vorgenommen. Zu Beginn der Versuche waren die jungen Ratten 3 und 4 Tage alt. Die Anfangsgewichte lagen in einer Gruppe (△) über, in der anderen Gruppe (○) unter dem der Normaltiergruppe (●). Zwischen 6. und 7. Tag kommt es in beiden Gruppen zu einer etwas niedrigeren Gewichtszunahme, während die beiden Kurven (△ , ○) sonst nahezu parallel zu der Kurve der Kontrolltiere verlaufen. Dies deutet darauf hin, daß es bei diesen Versuchen mit Bactrim^{R} zu keiner negativen Beeinträchtigung der Gewichtsentwicklung gekommen ist. Auffällig ist jedoch, daß die Tiere (△), die ein hohes Gewicht zu Beginn hatten, ein niedriges SB hatten und umgekehrt mit niedrigem Gewicht (○) ein hohes SB (vergl. Abb. 16).

Im Rahmen dieser Untersuchung kann nur festgestellt werden, ob es zu einer Beeinträchtigung der Gewichtsentwicklung gekommen ist oder nicht. Inwieweit dies aufgrund einer Irritation der Tiere durch die Applikation (p.o. und i.v.), durch das Medikament selber oder durch beide Faktoren bedingt ist, müßte ge-

sondert untersucht werden. Schließlich muß man auch die natürliche Streubreite in Rechnung stellen.

Bactrim^{R} 600/400 mg/kg * Kontrollgruppe

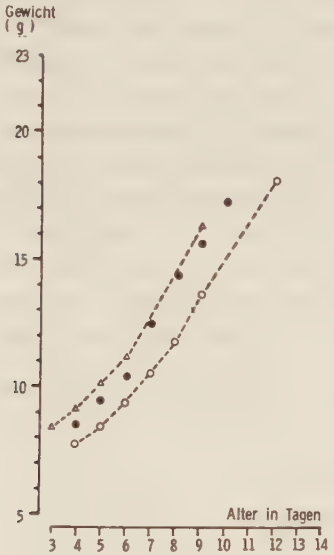


Abb. 40: Durchschnittliche Gewichtsentwicklung bei zu Beginn 3 und 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach 2maliger i.v.-Injektion von Bactrim^{R}, zu Versuchsbeginn 600 mg/kg, nach 24 Std. 400 mg/kg an laktierende Rattenmütter. (○ n=5), (△ n=7),● Normaltiere siehe Abb. 31.

E. Korrelation zwischen Bilirubin/Gewicht

Die Gewichtsentwicklung der jungen homozygoten Gunn Ratten nach Applikation von Aspirin^{R}, Aspisol^{R} und Isozid^{R} an laktierende Rattenmütter sowie aus den Vorversuchen und der Kontrolltiergruppe ist in diesem Abschnitt in Korrelation zum SB-Verlauf dargestellt, weil sich gezeigt hat, daß bei einigen Versuchen eine direkte Beziehung zwischen Gewichtsverhalten und SB-Verlauf

zu bestehen scheint. Gewichtsverlauf ist mit den unterbrochenen Linien (---), die Bilirubinkurven mit den ausgezogenen Linien (——) dargestellt.

Im ersten Beispiel, Abb. 41, ist der Gewichtsverlauf in Bezug zum Bilirubinverlauf bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten während 48 Std. nach oraler Gabe von 2000 mg/kg Aspirin^{R} an eine laktierende Rattenmutter dargestellt. Bilirubin- und Gewichtsbestimmungen wurden nach 6, 24 und 48 Stunden durchgeführt. Die Gewichtskurve (▽---▽) zeigt ein sehr deutliches, kontinuierlich anhaltendes Absinken, während das SB (○——○) von 8,17 mg/dl auf 15,25 mg/dl nach 48 Std. um 87 % gegenüber dem Ausgangswert angestiegen ist (s. auch Abb. 29). Die erwartete Gewichtsentwicklung von Normaltieren ohne Medikament wird durch die schwarzen Punkte (●) dargestellt.

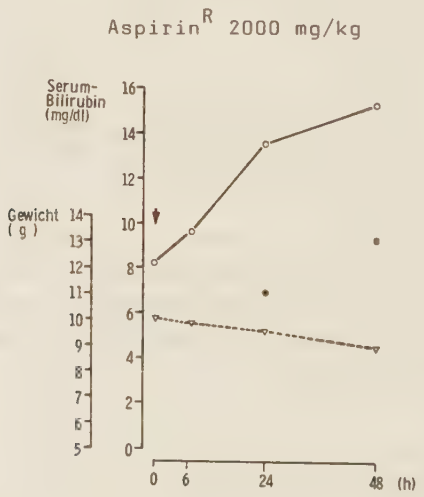


Abb. 41: Durchschnittliche SBK (○——○) und Gewichtsentwicklung (▽---▽) bei jungen homozygoten Gunn Ratten vor und nach oraler Gabe (↓) von 2000 mg/kg Aspirin^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=4). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Die Gewichtsabnahme kann dadurch erklärt werden, daß die Rattenmutter, irritiert und beeinflußt durch die Dosierung und/oder Applikation des Medikamentes, die Rattenbabies nicht säugte. Der Versuch wurde am 3. Tag beendet, nachdem die Rattenmutter - vermutlich durch die hohe Dosierung des Aspirin^{R} - ad exitum kam. Der starke Bilirubin-Anstieg liegt sicherlich in dem unfreiwilligen Fasten begründet.

Im folgenden sind die Korrelationen zwischen Bilirubinverlauf und Gewichtsentwicklung von jungen homozygoten Gunn Ratten nach i.v.-Injektion von Aspisol^{R} an Rattenmütter dargestellt.

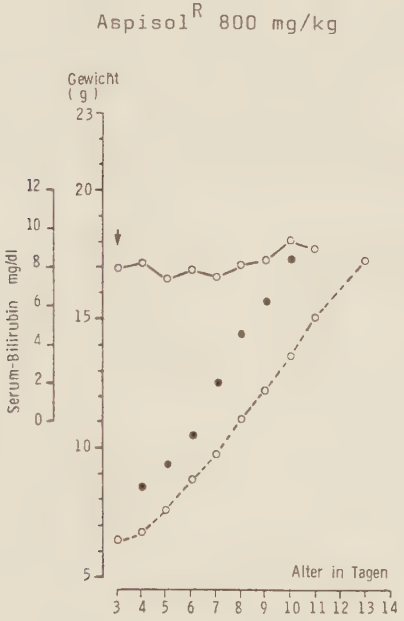


Abb. 42: Durchschnittliche SBK (o——o) und Gewichtsentwicklung (o---o) bei zu Versuchsbeginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach i.v.-Gabe (▼) von 800 mg/kg Aspisol^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=7).(●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Abb. 42 zeigt den Verlauf nach einmaliger Injektion von 800 mg/kg. Die Tiere waren 3 Tage alt bei Versuchsbeginn. Die tägliche Gewichtszunahme der Versuchstiere (o---o) ist etwas geringer als die der Normaltiere (●), was durch den von Tag zu Tag größer werdenden Abstand zwischen beiden Kurven deutlich wird. Das primäre Gewichtsniveau der Versuchstiere ist niedriger als das der Normaltiere. In diesem Versuchsansatz ist die SBK offenbar nicht von der Mangelernährung beeinflußt.

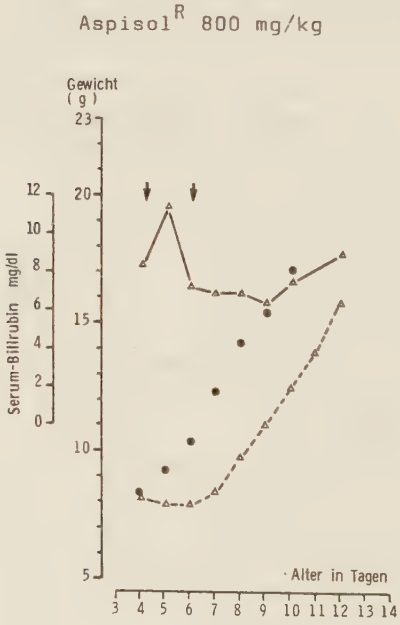


Abb. 43: Durchschnittliche SBK (Δ——Δ) und Gewichtsentwicklung (Δ---Δ) bei zu Versuchsbeginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger i.v.-Gabe (⬇) von 800 mg/kg Aspisol^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=8). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

In der Abb. 43 ist der Bilirubin- und Gewichtsverlauf nach zweimaliger Injektion von 800 mg/kg Aspisol^{R} dargestellt. An den ersten 3 Versuchstagen (4.-7. Tag) kommt es nacheinander zu einem leichten Gewichtsverlust, Stagnation und zu geringer Gewichtszunahme. Vom 7. Lebenstag an verläuft die Gewichtskurve parallel zur Normaltierkurve (●).

Bezieht man den Bilirubinverlauf (△——△) auf die Gewichtsentwicklung (△---△), so sieht man zwischen 4. und 5. Tag bei einer Gewichtsabnahme einen deutlichen SB-Anstieg. Vom 5. zum 6. Tag fällt das Bilirubin deutlich ab bei Gewichtsstagnation. Bis zum 9. Tag sinkt die SBK täglich wenig ab, gefolgt von einem Ansteigen bis zum 12. Lebenstag, während die Tiere nur noch vom 6. zum 7. Tag verlangsamt, danach normal an Gewicht zunehmen. Der deutliche SB-Anstieg am 1. Versuchstag kann mit der gleichzeitigen Gewichtsabnahme in Zusammenhang gebracht werden. Jedoch scheint die weitere Gewichtszunahme die SBK nicht mehr unmittelbar zu beeinflussen.

Deutlicher wird der Zusammenhang zwischen SB und Gewicht in den beiden folgenden Darstellungen. Abb. 44 und 45 zeigen den Verlauf nach zweimaliger Injektion von 1000 mg/kg Aspisol^{R}. Nach der ersten Medikamentengabe an die Rattenmutter kommt es in den folgenden 24 Stunden in beiden Versuchsansätzen bei den Jungtieren zu einem Gewichtsverlust begleitet von einem sehr deutlichen Anstieg der SBK. Vom 5. zum 6. Lebenstag nehmen die Tiere dann an Gewicht zu, das SB sinkt in beiden Gruppen ab. Nach der zweiten Applikation kommt es zum gleichen Effekt. In der einen Gruppe (Abb. 44) zeigt sich erneut eine Gewichtsabnahme, im zweiten Versuch (Abb. 45) ist eine sehr geringe Gewichtszunahme zu sehen,

jedoch steigt das Bilirubin in beiden Gruppen erneut stark an. Von dem 7. Lebenstag an nehmen alle Tiere kontinuierlich zu, in Abb. 44 entsprechend den Normaltieren, in Abb. 45 etwas langsamer. Das SB sinkt parallel mit der Gewichtszunahme in den Bereich von Normaltieren und bleibt in den restlichen Versuchstagen in diesem Niveau.

Aspisol^{R} 1000 mg/kg

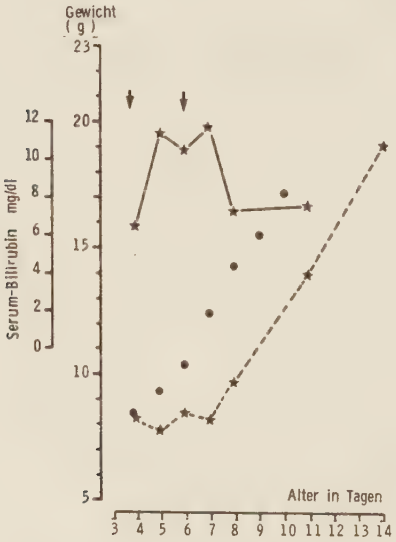


Abb. 44: Durchschnittliche SBK (★—★) und Gewichtsentwicklung (★-·-★) bei jungen homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger i.v.-Gabe (↓) von 1000 mg/kg Aspisol^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=7). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Aspisol^{R} 1000 mg/kg

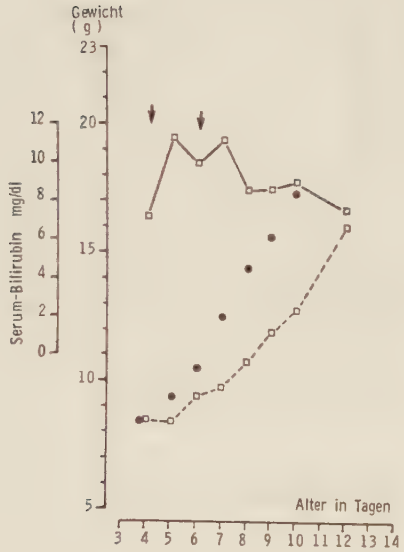


Abb. 45: Durchschnittliche SBK (□——□) und Gewichtsentwicklung (□---□) bei zu Versuchsbeginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten nach zweimaliger i.v.-Gabe (↓) von 1000 mg/kg Aspisol^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=7). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

In der Abb. 46 ist der Verlauf von SB und Gewicht nach einer Aspisol^{R}-Injektion an die laktierende Rattenmutter dargestellt. Gewichts- und Bilirubinbestimmungen wurden nach 3, 6 und 24 Std. durchgeführt. Es zeigte sich bei jeder Wägung eine kontinuierliche, über den ganzen Versuchszeitraum anhaltende Gewichtsabnahme. Nach 24 Std. wogen die Tiere ca. 2 g weniger als erwartet. Die SBK war nach 3 Std. kaum merklich abgesunken, nach 6 Std. lag sie etwas über dem Ausgangswert. Nach 24 Std. war das Bilirubin sehr stark auf 13,84 mg/dl gegenüber dem Ausgangswert von 7,41 mg/dl angestiegen.

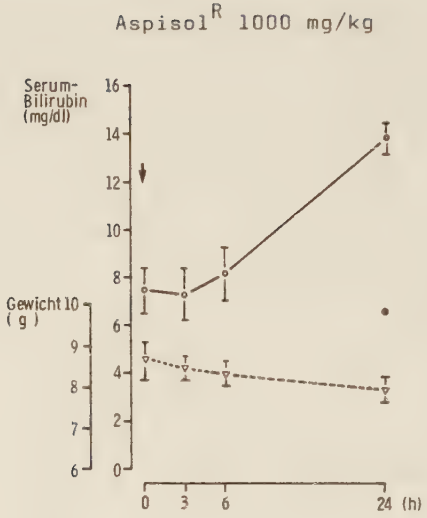


Abb. 46: Durchschnittliche SBK (o——o) und Gewichtsentwicklung (▽---▽) bei jungen homozygoten Gunn Ratten vor und nach einmaliger i.v.-Gabe (⬇) von 1000 mg/kg Aspisol^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=8). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Die folgenden Abbildungen zeigen Bilirubin- und Gewichtsverlauf junger Gunn Ratten nach oraler Gabe von Isozid^{R} an Rattenmütter. Der Verlauf nach zweimaliger Applikation von 500 mg/kg ist in Abb. 47 dargestellt. Das initiale Gewichtsniveau ist bei den Versuchstieren (o---o) niedriger als das der Normaltiere (●). Ebenso ist die tägliche Gewichtszunahme der Versuchstiere etwas geringer als die der Normaltiere, was durch einen täglich zunehmenden Abstand beider Kurven sichtbar wird. Die SBK steigt zunächst langsam an und fällt dann auf ein Niveau unter dem Ausgangswert. In diesem Versuchsansatz ist kein Einfluß der Mangelernährung auf die SBK zu erkennen.

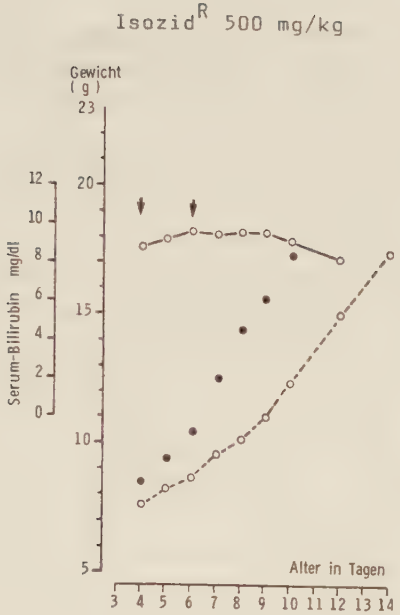


Abb. 47: Durchschnittliche SBK (o——o) und Gewichtsentwicklung (o---o) bei zu Versuchsbeginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger oraler Gabe (⬇) von 500 mg/kg Isozid^{R} an eine laktierende Rattenmutter (n=8). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

In Abb. 48 ist die Korrelation zwischen SB und Gewicht nach zweimaliger Gabe von 500 mg/kg Isozid^{R} dargestellt. An den ersten 3 Versuchstagen (6.-9. Tag) kommt es nur zu einer minimalen Gewichtszunahme. Vom 9. Lebenstag an nahmen die Tiere deutlicher zu, jedoch ist die tägliche Gewichtszunahme etwas weniger als die der Normaltiere (●). Bezieht man Bilirubin- und Gewichtsverlauf aufeinander, so steigt die SBK an den ersten 3 Versuchstagen bei nahezu Gewichtsstagnation sehr stark an. Sie fällt ebenso deutlich ab bei Gewichtszunahme vom 9. Lebenstag an. Der starke SB-Anstieg kann mit der verlangsamten Gewichtszunahme in den ersten 3 Tagen, wie der SB-Abfall mit der danach folgenden deutlichen Gewichtszunahme in

Zusammenhang gebracht werden.

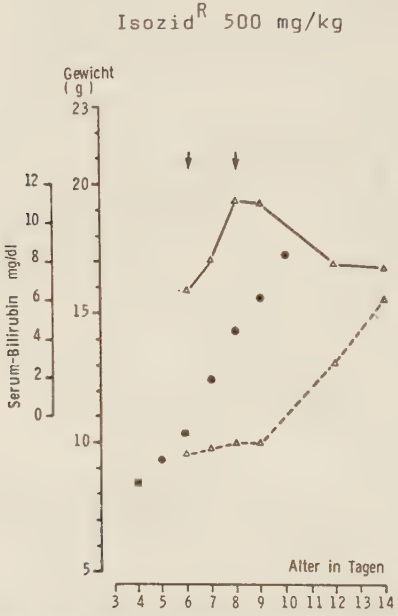


Abb. 48: Durchschnittliche SBK (▵——▵) und Gewichtsentwicklung (▵---▵) bei zu Beginn 6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach zweimaliger oraler Gabe (⬇) von 500 mg/kg Isozid^R an eine laktierende Rattenmutter (n=6). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

In den folgenden Versuchsansätzen (Abb. 49 und 50) wurde jeder Rattenmutter 2mal 500 mg/kg Isozid^R per os appliziert. Jede Rattenmutter hatte 8 junge Ratten zu säugen, wovon 4 homozygot und 4 heterozygot waren. Es sollte herausgefunden werden, ob die Gewichtsbeeinflussung nur bei homozygoten Tieren beobachtet werden konnte und möglicherweise durch die vorher festgestellten hohen SBK mitbedingt ist.

Abb. 49 zeigt Gewichts- (★--★) und Bilirubinverlauf (★——★) von homozygoten und den Gewichtsverlauf (■——■) von heterozy-

goten jungen Ratten. Die Gewichtsentwicklung beider Gruppen ist identisch; die Kurven verlaufen während der ganzen Versuchsdauer parallel. Das Gewicht bei Versuchsbeginn ist bei den heterozygoten Tieren höher als bei den homozygoten Ratten und liegt bei beiden Gruppen über dem der Normaltiere (●). In den ersten 3 Versuchstagen (5.-8. Tag) kommt es in beiden Gruppen zu einer geringen Gewichtszunahme. Beide Kurven liegen am 8. Tag deutlich unter der Normaltierkurve. Danach nehmen beide Gruppen wie die Normaltiere zu. Die SBK der homozygoten Tiere steigt in den ersten 3 Versuchstagen deutlich an und fällt ab

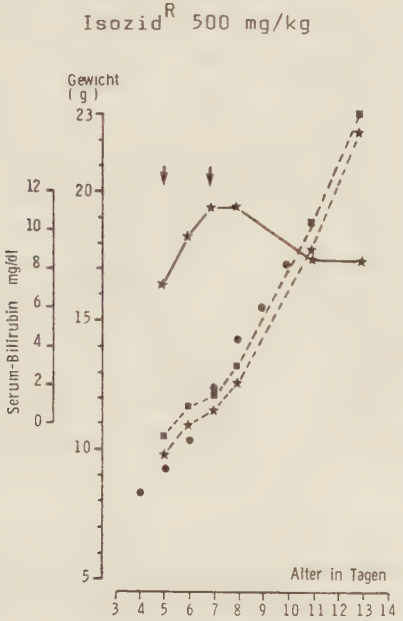


Abb. 49: Durchschnittliche SBK (★—★) und Gewichtsentwicklung (★--★) bei zu Beginn 5 Tage alten homozygoten Gunn Ratten (n=4) sowie Gewichtsentwicklung (■---■) bei heterozygoten Gunn Ratten (n=4) vor und nach zweimaliger oraler Gabe (↓) von 500 mg/kg Isozid^{R} an eine laktierende Rattenmutter. (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

8. Tag ebenso deutlich auf das Niveau von Normaltieren ab. Der SB-Anstieg steht hier offensichtlich in Zusammenhang mit der verminderten Gewichtszunahme der homozygoten Tiere, wie der deutliche Abfall des SB mit dem normalen Wachstum zwischen 8. und 13. Tag.

In Abb. 50 sind Gewichts- und Bilirubinkurven von homozygoten und Gewichtskurve von heterozygoten jungen Ratten dargestellt. Der Gewichtsverlauf beider Gruppen ist mit Ausnahme zwischen 6. und 7. Lebenstag identisch. Im Vergleich zu Normaltieren (●)

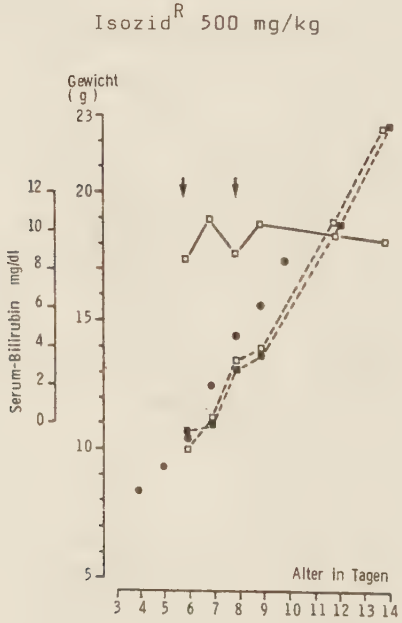


Abb. 50: Durchschnittliche SBK (□——□) und Gewichtsentwicklung (□---□) bei zu Beginn 6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten (n=4) sowie Gewichtsentwicklung (■---■) bei heterozygoten Gunn Ratten (n=4) vor und nach zweimaliger oraler Gabe (↓) von 500 mg/kg Isozid® an eine laktierende Rattenmutter. (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

nehmen beide Versuchstiergruppen zwischen 6. und 7. Tag weniger zu, wobei die Gewichtszunahme bei den heterozygoten Tieren geringer ist. Vom 7. zum 8. Tag nehmen beide Gruppen wie Normaltiere zu. Zwischen 8. und 9. Tag kommt es erneut zu einem deutlich verminderten Wachstum gegenüber den Kontrolltieren. Danach verlaufen die Gewichtskurven parallel zur Normaltierkurve. Die SBK der homozygoten Tiere steigt deutlich vom 6. zum 7. Tag mit der verminderten Gewichtszunahme an und fällt bei normalem Wachstum zwischen 7. und 8. Tag ebenso deutlich ab. Bei erneut geringerem Wachstum vom 8. zum 9. Tag steigt das SB wieder stark an und fällt dann auf Normalwerte für homozygote Tiere bei normaler Gewichtsentwicklung. Auch hier stehen Anstieg und Abfall der SBK offensichtlich mit dem verminderten und normalen Wachstum der Ratten in Zusammenhang.

Die Bilirubinkonzentrationen der 8 heterozygoten Ratten lag bei allen Messungen unter 1,0 mg/dl und zeigte keinerlei Beziehungen zur Gewichtsentwicklung dieser Tiere.

Die Gewichtsentwicklung von homo- und heterozygoten Tieren ist in diesen Versuchen mit Ausnahme von 1 Tag in einem Versuch (Abb. 50) identisch. Diese Beobachtung spricht dafür, daß das verminderte Wachstum eher auf Irritationen der Rattenmütter und dadurch bedingtes Nichtsäugen der Rattenbabies zurückzuführen ist und dagegen, daß hohe SBK bei jungen homozygoten Ratten diese Wachstumsminderung bedingen.

Abb. 51 zeigt aus 2 Versuchsansätzen den SB- und Gewichtsverlauf über 48 Std. nach einmaliger oraler Gabe von 1000 mg/kg Isozid^{R}. In beiden Gruppen kann man eine verminderte Gewichtszunahme nach 24 Std. feststellen. Die Tiere der Gruppe A nehmen am 2. Versuchstag erneut weniger zu als erwartet, während die jungen Ratten der Gruppe B in diesem Zeitraum normal wachsen. Bezieht man den SB-Verlauf auf die Gewichtsentwicklung, so sieht man in den ersten 24 Std. in beiden Gruppen einen deutlichen SB-Anstieg bei Mangelernährung. In der Gruppe A steigt das SB von der 24. bis zur 48. Std. bei vermindertem Wachstum

weiter an. Bei den Tieren der Gruppe B sinkt das SB in diesem Zeitraum bei normaler Gewichtsentwicklung (s.a. Abb. 22). Der Anstieg und Abfall der SBK kann hier mit der Gewichtsentwicklung in Zusammenhang gebracht werden. Auffällig ist auch, daß die Tiere mit höherem Anfangsgewicht ein niedrigeres SB haben und umgekehrt.

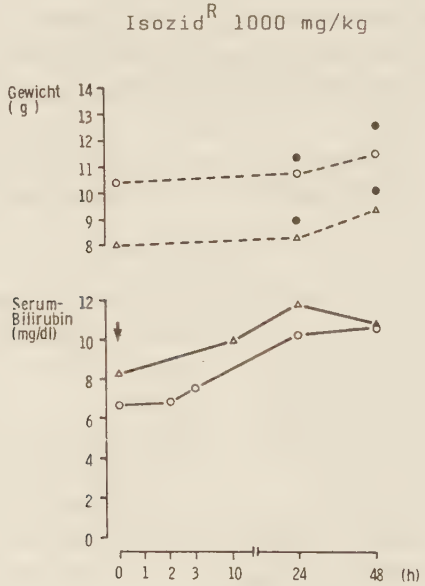


Abb. 51: Durchschnittliche SBK (A: o——o, B: Δ——Δ) und Gewichtsentwicklung (A: o---o, B: Δ---Δ) bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten vor und nach oraler Gabe (▼) von 1000 mg/kg Isozid® an eine laktierende Rattenmutter. (A: o n=7) (B: Δ n=6). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Die in diesem Abschnitt dargestellte Beziehung zwischen SB und Gewicht bei jungen Ratten nach Medikamentengabe an Rattenmütter konnte auch bei von mir durchgeführten Kontrolltierversuchen beobachtet werden. Jedoch ist die Anzahl der Tiere aus der Kontrolltiergruppe sehr gering (4 von 52).

Die Gewichtskurve (▲---▲) in Abb. 52 zeigt an den ersten beiden Tagen ein normales Wachstum der Tiere. Vom 8. zum 9. Tag nahmen die jungen Ratten ab, danach verläuft die Gewichtsentwicklung wieder wie erwartet. Bei Gewichtsabnahme kommt es zu einem deutlichen SB-Anstieg, bei normalem Wachstum ab 9. Tag fällt das SB wieder auf Normalwerte ab. Der Zusammenhang zwischen Mangelernährung und Bilirubinanstieg wird hier offensichtlich, zumal weder Rattenmutter noch junge Ratten durch Medikamente beeinflußt sein konnten. Der Grund für diese Gewichtsabnahme war sicherlich fehlende Nahrungsaufnahme, deren Ursache nicht herausgefunden werden konnte.

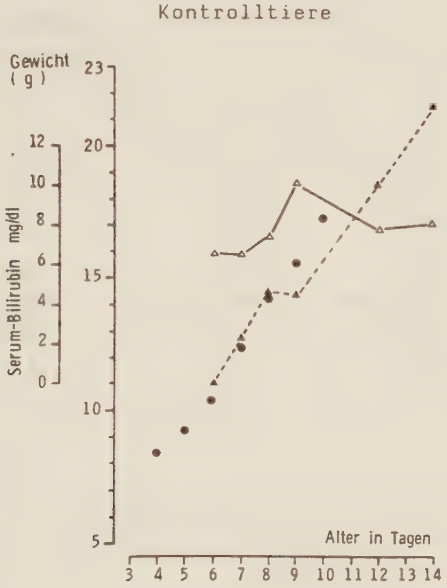


Abb. 52: Durchschnittliche SBK (△——△) und Gewichtsentwicklung (▲---▲) bei zu Beginn 6 Tage alten homozygoten Gunn Ratten (n=4). (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Aus den bisher in diesem Kapitel dargestellten Hauptversuchen mit Aspirin^{R}, Aspisol^{R} und Isozid^{R} sowie bei einigen Kontroll-

tieren kann man erkennen, daß das Gewichtsverhalten Einfluß auf den SB-Verlauf haben kann. Bei Mangelernährung stieg die SBK deutlich an, bei normalem Wachstum normalisierte sich das SB.

In einigen Vorversuchen, nach direkter Medikamentengabe an junge homozygote Gunn Ratten, wurden Gewichtsabnahmen festgestellt. An drei Beispielen soll der Gewichtsverlauf mit der SBK dieser Tiere verglichen werden.

Abb. 53 zeigt Gewichts- und SB-Verlauf nach direkter Gabe von 50 mg/kg Madribon^{R} an junge Gunn Ratten. Das Gewicht ist innerhalb von 24 Std. nicht angestiegen. Die SBK ist aber bereits nach 3, 6 und 24 Std. sehr stark gesunken.

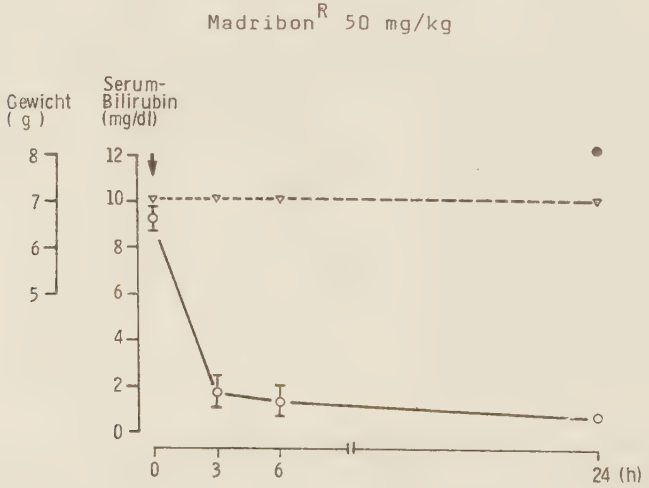


Abb. 53: Durchschnittliche SBK (o——o) und Gewichtsentwicklung (▽---▽) bei zu Beginn 4 Tage alten homozygoten Gunn Ratten (n=3, 24 h: n=2) vor und nach oraler Gabe (⬇) von 50 mg/kg Madribon^{R}. (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

In Abb. 54 ist der Gewichts- und SB-Verlauf nach direkter Gabe von 500 und 1000 mg/kg Aspisol^{R} an junge homozygote Gunn Ratten

dargestellt. Bei beiden Dosierungen nehmen die Tiere in den ersten 24 Std. an Gewicht ab. Trotzdem kommt es zu dem deutlichen SBK-Abfall nach 30 Min., 3 Std. und 24 Std.

Aspisol^{R} 500 und 1000 mg/kg

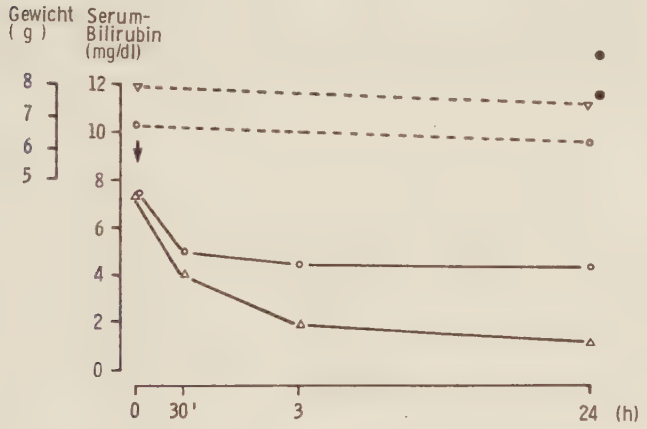


Abb. 54: Durchschnittliche SBK (○——○,△——△) und Gewichtsentwicklung (○---○,▽---▽) bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten (n=3) vor und nach oraler Gabe (↓) von 500 mg/kg (○, n=3) und 1000 mg/kg (△, n=4, 24 h =2) Aspisol^{R}. (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Abb. 55 zeigt die Beziehung zwischen Gewicht und SB-Verlauf nach direkter Gabe von 400 mg/kg Isozid^{R} an junge Gunn Ratten. Das Gewicht stagnierte und lag 24 Std. nach Versuchsbeginn deutlich unter der erwarteten Gewichtsentwicklung. Die SBK war aber nach 30 Min. und 3 Std. deutlich abgesunken. 24 Std. nach Versuchsbeginn lag sie etwas über dem Ausgangswert.

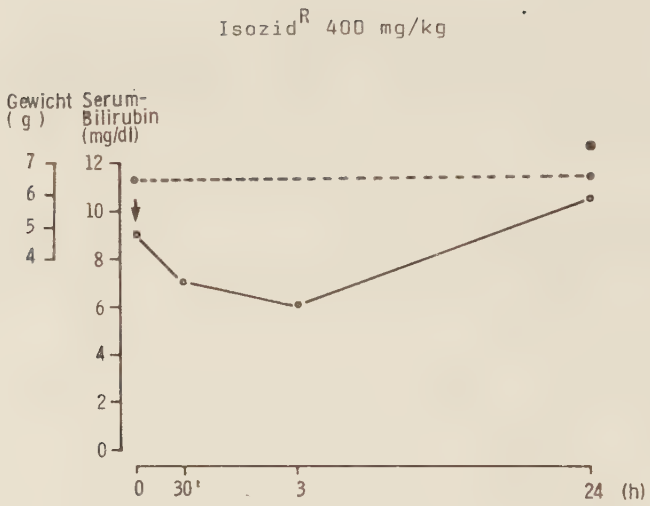


Abb. 55: Durchschnittliche SBK (o——o) und Gewichtsentwicklung (o---o) bei zu Beginn 3 Tage alten homozygoten Gunn Ratten (n=4) vor und nach oraler Gabe (⬇) von 400 mg/kg Isozid®. (●) Erwartete Gewichtsentwicklung nach Korn (50).

Allen drei voranstehenden Beispielen mit verschiedenen Medikamenten ist gemeinsam, daß, wenn die jungen Ratten die Medikamente direkt erhalten haben, die SBK trotz Mangelernährung abgefallen ist. Die Hauptversuche mit Madribon® haben einen Übergang des Medikamentes via Muttermilch von der Mutter auf junge Ratten bestätigt. In Vor- und Hauptversuchen kam es zu deutlichem Absinken der SBK unabhängig von der Gewichtsentwicklung. Bei den Hauptversuchen mit Aspirin®, Aspisol® und Isozid® muß man davon ausgehen, daß es hier nicht zu einem Übergang der Medikamente von Mutter auf junge Ratten mit der Milch gekommen ist. Es kam überwiegend zu einem deutlichen SBK-Anstieg bedingt durch, bei Aspirin® gänzliche, sonst temporäre Mangelernährung. Die Ursache liegt entweder darin, daß die Rattenmütter irritiert durch die Medikamente und/oder deren Applikation einige Stunden nach Medikamentengabe ihre Jungen nicht säugten und die Medikamente aufgrund der relativ kurzen Halbwertzeit abgebaut und aus der Milch rückdiffundiert

waren, oder aber, daß sie sich nicht in so großen Mengen in der Milch angereichert und von den Rattenbabies resorbiert wurden, daß dies ein Absinken der SBK bewirken konnte. Die beiden oben beschriebenen Vorversuche mit Aspisol^{R} und Isozid^{R} zeigen, daß es - trotz Mangelernährung - zu einer Verdrängung des albumingebundenen Bilirubins und damit zum Absinken der SBK kommen kann, wenn diese Medikamente ins Blut der jungen Ratten gelangen. Die in den Vorversuchen beobachtete Mangelernährung dürfte durch Irritation der jungen Ratten bedingt sein.

F. Histochemische Untersuchungen am Kleinhirn

Unkonjungiertes Bilirubin ist zytotoxisch (36, 37), was sich pathologisch anatomisch am Gehirn als Kernikterus manifestieren kann. Homozygote Gunn Ratten entwickeln aufgrund ihrer Hyperbilirubinämie einen Kernikterus. Es war bekannt, daß sich nach Infusion von ^{14}C-markiertem Bilirubin an erwachsene Gunn Ratten und junge Meerschweinchen und anschließender Gabe von Salicylsäure ein Aktivitätsverlust im Serum und eine Aktivitätszunahme im Gehirn zeigte (27). Dies wurde mit der Verdrängung des zunächst an Albumin gebundenen Bilirubin ^{14}C durch die Salicylsäure mit anschließender Diffusion des freigesetzten Bilirubins ins ZNS erklärt (5, 27). Aufgrund dieses Zusammenhanges sollte in den durchgeführten Untersuchungen herausgefunden werden, ob nach Medikamentengabe an Rattenmütter und direkt an Rattenbabies der Kernikterus bei den jungen Ratten verstärkt wird. Ein Kernikterus kann bereits am 3. Lebenstag (44) auftreten, jedoch ist die Beurteilung der Purkinjezellschädigung innerhalb der ersten 10 Lebenstage schwierig, danach aber gut möglich (91). Das Ausmaß des Kernikterus kann besonders gut durch enzymhistochemische Hirnschnittuntersuchungen am Purkinjezellverlust (PZV) beurteilt werden (5, 36). Bei den durchgeführten Untersuchungen waren alle Tiere bei Gehirnentnahme 12 Tage und älter. Die Ergebnisse, deren Beurteilung Hanefeld vorgenommen hat, resultieren aus den mit Lactatdehydrogenase (LHD)-Reaktion gefärbten Hirnschnitten und sind in

Tab. 1 zusammengefaßt.

Tab. 1: Ergebnisse sämtlicher Hirnschnitte. Genaue Beschreibung siehe Text.

	Medikament Dosierung (mg/kg)	Alter (Tage)	Purkinjezellverlust 0	0-1	1	1-2	2	2-3	3	n
A:	Madribon^{R}									
	5/tgl.	26	-	-	-	2	5	-	-	7
	5/tgl. (*)	26	1	-	-	-	-	-	-	1
	Aspisol^{R}									
	1x500	13	-	-	2	1	1	-	-	4
B:	Madribon^{R}									
	2x300	22	-	-	-	1	1	-	-	2
	2x300 (a)	22	-	-	-	-	6	-	-	6
	(b)	22	-	-	-	4	1	-	-	5
	1x300	12	-	-	-	-	2	3	-	5
	Bactrim^{R}									
	600/400	14	-	-	1	1	3	-	-	5
	Isozid^{R}									
	2x500	13/14	-	-	-	-	2	10	-	12
	2x500 (*)	13/14	8	-	-	-	-	-	-	8
	Aspisol^{R}									
	2x800	12	-	1	2	1	-	-	-	4
	2x1000	13	-	-	-	-	1	2	-	3
C:		12-14,22	3	2	1	2	7	-	-	15

Gradeinteilung des Purkinjezellverlustes:

0: normale Zellzahl

1: leichte Zellzahlverminderung

2: mittelstarke Zellzahlverminderung

3: starke Zellzahlverminderung

(*): heterozygote Tiere

(a) und (b): Versuch siehe Abb. 14

In Gruppe A: sind alle aus den Vorversuchen durchgeführten Hirnschnittuntersuchungen zusammengestellt, in Gruppe B: aus den Hauptversuchen und Gruppe C: die der Kontrolltiergruppe. Alter (Tage) entspricht dem Zeitpunkt der Gehirnentnahme, n: bedeutet die Gesamtzahl der pro Medikament und Dosis untersuchten Gehirne.

Bei den 9 untersuchten heterozygoten Tieren war, wie erwartet (90), kein PZV nachweisbar, obwohl 1 Tier direkt Madribon^{R} erhalten hatte, die anderen 8 von Rattenmüttern gesäugt wurden, die Isozid^{R} erhalten hatten.
In der Kontrolltiergruppe hatten von 15 Tieren 10 einen PVZ, 5 junge Ratten hatten keinen bzw. einen fraglichen PVZ (0/0-1). Die Ergebnisse der Vor- und Hauptversuche wurden in der Tab. 2 in 2 Gruppen aufgeteilt: in für Gunn Ratten dieses Alters ohne Behandlung erwarteten PZV (bis mittelstarke Zellzahlverminderung 1 bis 1-2) und verstärkten PZV (2-3) (52).
Die heterozygoten Tiere wurden nicht in diese Einteilung übernommen, da hier kein PZV nachweisbar war.

Aus Tabelle 2 ist zu ersehen, daß nach Gabe von Madribon^{R} in den Vorversuchen (5 von 7) ca. 70 % der Tiere einen verstärkten PZV haben. Nach Gabe von Aspisol^{R} haben 75 % (3 von 4) einen altersentsprechenden Befund. In beiden Gruppen kam es zum deutlichen Abfall der SBK.

In den Hauptversuchen ist nach Gabe von Madribon^{R} der Anteil ca. 70 % vergleichbar mit dem aus den Vorversuchen. Klammert man den mit (a) (b) gekennzeichneten Versuch aus, so liegt er wesentlich höher (6 von 7) ca. 85 %. Der in Abb. 14 dargestellte Versuch zeigt, daß die mit (a) gekennzeichnete Gruppe n=6 in der ersten Periode von der Mutter (A) (mit Medikament) gesäugt wurde und alle Tiere einen verstärkten PZV haben. Die Gruppe (b) n=5 wurde in der zweiten Periode von der Rattenmutter (A) gesäugt, war also schon 9 Tage alt. Hier haben 4 von 5 Tieren 80 % einen altersentsprechenden PZV. Es erhebt sich die Frage, inwieweit die Bluthirnschranke bei den Tieren

Tab. 2: Ergebnisse der histochemischen Gehirnschnittuntersuchungen bei jungen homozygoten Gunn Ratten aus den Vorversuchen (A) und Hauptversuchen (B) unterteilt in altersentsprechenden PZV und verstärkten PZV.

	Medikament Dosierung (mg/kg)	Alter (Tage)	altersent-entsprechender PZV	verstärkter PZV	n
A:	Madribon^{R} 5/tgl.	26	2	5	7
	Aspisol^{R} 1x500	13	3	1	4
B:	Madribon^{R} 2x300	22	1	1	2
	2x300 (a)	22	-	6	6
	(b)	22	4	1	5
	1x300	12	-	5	5
			5	13	18
	Bactrim^{R} 600/400	14	2	3	5
	Isozid^{R} 2x500	13/14	-	12	12
	Aspisol^{R} 2x 800	12	4	-	4
	2x1000	13	-	3	3

(a) und (b): Versuch siehe Abb. 14

der Gruppe (b) vom 9. Lebenstag an im Vergleich zur Gruppe (a) vom 3. Lebenstag an weniger durchlässig für freigesetztes Bilirubin war, denn der SB-Abfall war in beiden Gruppen etwa gleich (s. Abb. 14). Nach Bactrim^{R}-Gabe hatten von 5 Tieren 3 einen verstärkten und 2 einen altersentsprechenden PZV. Sehr deutlich war der Befund nach Isozid^{R}-Applikationen. Von 12 untersuchten Gehirnen zeigten alle einen verstärkten PZV. Nach Aspisol^{R}-Applikation waren bei der niedrigeren Dosierung alle

4 untersuchten Gehirne altersentsprechend, bei der höheren Dosis war bei allen 3 Tieren ein verstärkter PZV festzustellen. Jedoch müssen die Ergebnisse wegen der in den einzelnen Gruppen geringen Anzahl der Tiere zurückhaltend bewertet werden.

In der Kontrolltiergruppe (C:) wurde bei 10 von 15 Tieren ein PZV (Grad 1 bis 1-2) festgestellt, was 66,6 % entspricht. Dies korreliert gut mit Ergebnissen, die bereits von Schutta and Johnson 1969 (91) veröffentlicht wurden. Sie hatten bei unbehandelten Gunn Ratten im vergleichbaren Alter von 11-22 Tagen einen PZV in 52 bis 82 % feststellen können (91).
Diese Ergebnisse der histochemischen Untersuchungen und ihre Beziehung zum SB-Verlauf und zur Gewichtsentwicklung werden später im folgenden Abschnitt diskutiert.

IV. Diskussion

Von der Mutter während der Stillzeit eingenommene Medikamente können zu Schäden beim gestillten Kind führen (75, 107). Häufig wird die Gefahr eines Kernikterus genannt (76, 103, 107). Es gibt nur wenige Veröffentlichungen, in denen der Übergang von Medikamenten mit der Muttermilch im Hinblick auf Auswirkungen auf das Kind untersucht wird. Die meisten bisher bekannten Daten stammen aus Einzelfallberichten (59, 105). Aus ethischen Gründen verbietet es sich (78), Auswirkungen beim gestillten Kind - nach Arzneimittelgabe an die Mutter - in klinischen Studien (bzw. gleichzeitige Medikamentenkonzentrationen bei Mutter und Kind) zu testen.

Gegenstand dieser Arbeit war der Versuch, am Modell der Gunn Ratte herauszufinden, ob die an Mütter verabreichten Medikamente das SB und den Kernikterus der jungen Ratten beeinflussen. Durch "Melkversuche" konnte nicht genügend Milch von den Rattenmüttern gewonnen werden, um die Medikamentenkonzentration darin zu bestimmen. Deshalb wurde zuerst in Vorversuchen jungen Tieren

die Medikamente direkt appliziert. Der möglicherweise hier zu beobachtende Einfluß auf die SBK sollte dann in den Hauptversuchen, in denen Rattenmüttern die Medikamente appliziert wurden, als Orientierungshilfe dienen.

Die Gunn Ratte gilt als geeignetes Tiermodell zum Studium des Bilirubinstoffwechsels und des Kernikterus (44, 108). Nach Beobachtungen von Silverman (94) entwickelte sich bei frühgeborenen Kindern, die mit Sulfisoxazol behandelt wurden, verstärkt ein Kernikterus. Von Johnson und Mitarbeitern (44) wurde zum ersten Mal an Gunn Ratten herausgefunden, daß es nach Sulfonamid-Gabe zu einem Abfall der SBK kam. Sie waren wie andere Untersucher (63, 109)) der Meinung, daß Medikamente mit Bilirubin um die Bindungsstelle am Albumin konkurrieren können. Dies wurde in zahlreichen späteren Studien bestätigt (3, 4, 18, 20, 45). Es kommt zum Absinken der SBK, da das freigesetzte unkonjugierte Bilirubin ins Gewebe (z.B. Gehirn) abwandert. Die Gefahr eines Kernikterus steigt, denn nicht die Konzentration des Gesamt-Bilirubins, sondern die des freigesetzten unkonjugierten Bilirubins erhöht das Kernikterus-Risiko (27, 28, 67).

Neben dem SB-Verlauf wurden bei einigen Tieren zur Beurteilung des Ausmaßes der Bilirubinencephalopathie Gehirnschnitte mikroskopisch untersucht. Die von Hanefeld und Natzschka (36) beschriebene und für experimentelle Studien zur Beurteilung des Kernikterus empfohlene Methode (mit histochemischer Beurteilung von Enzymreaktionen) wurde angewandt. Mit dieser einfachen Methode werden Verminderungen von Enzymen in den Zellen, gleichsam als Zeichen eines Vitalitätsverlustes, nachweisbar. Mit der Lactathydrogenasefärbung wurde der Purkinjezellverlust als Maß des Kernikterus bestimmt.

Zuerst wurde an heterozygoten Gunn Ratten in Anlehnung an Behrens und Kärber (10) die akute Toxizität ermittelt. Diese Methode hat sich in Voruntersuchungen (3) an der Kinderklinik der Freien Universität, Berlin bewährt. Es hat sich gezeigt, daß die so ermittelten Werte mit denen mit anderen Untersuchungsmethoden gewonnenen Werten vergleichbar siind (3, 52).

Die in dieser Arbeit gemessenen Hämatokritwerte junger Gunn Ratten stimmen mit den von Johnson bei jungen Tieren bestimmten Werten überein und unterscheiden sich kaum von denen erwachsener Tiere (44). Johnson konnte bei erwachsenen Tieren, entsprechend den Ergebnissen bei jungen Ratten in dieser Arbeit, keine direkte Beziehung zwischen SB- und Hämatokriterten feststellen (44). Durch die Hämatokrit-Bestimmungen konnten in meinen Versuchen in erster Linie medikamentenbedingte Hämolysen ausgeschlossen werden.

Die Fragestellung dieser Arbeit beinhaltet einerseits den Übergang von Medikamenten in die Muttermilch und andererseits die durch Medikamente bedingte Verdrängung des Bilirubins vom Albumin bei den gesäugten Jungen sowie den Einfluß auf den Kernikterus. Der zweite Teil der Frage wird durch die in Abschnitt III C und III F dargestellten Ergebnisse deutlich. Der erste Teil kann nur indirekt aus den Ergebnissen der Vorversuche (III C 2) in Bezug zu den Hauptversuchen (III C 3) abgeschätzt werden.

In den Vorversuchen kommt es bei den 5 untersuchten Medikamenten bei allen applizierten Dosierungen zum Abfall der SBK. Der Bilirubinabfall war abhängig von der Medikamentendosis; je höher die Dosierung, um so stärker und anhaltender war der SB-Abfall. Z.B. war das SB 3 Std. nach oraler Gabe auf folgende Werte abgesunken:

nach	50 mg/kg Madribon^{R}	(8,17 - 2,43 mg/dl)	um 70 % gesunken
	100 mg/kg Bactrim^{R}	(7,80 - 5,61 mg/dl)	um 28 % gesunken
	400 mg/kg Isozid^{R}	(9,00 - 6,00 mg/dl)	um 33 % gesunken
	1000 mg/kg Aspirin^{R}	(8,57 - 5,63 mg/dl)	um 34 % gesunken
	1000 mg/kg Aspisol^{R}	(7,30 - 1,95 mg/dl)	um 73 % gesunken

Auffällig war der Unterschied zwischen Aspirin^{R} und Aspisol^{R}, welche beide mit Acetylsalicylsäure die gleiche Wirksubstanz haben. Die Untersuchung des Lösungsvermittlers von Aspisol^{R} zeigte keinen Einfluß auf die SBK und konnte den Unterschied nicht erklären. Bei allen untersuchten Medikamenten konnte ein von

der Dosis abhängiger Abfall der SBK im Vergleich zur Kontrolltiergruppe, welche einen leichten Anstieg des SB zeigte, festgestellt werden.

Nach den Ergebnissen der Vorversuche mußte man in den Hauptversuchen mit einem Absinken der SBK rechnen, wenn die Medikamente mit der Muttermilch auf die jungen Tiere übergehen sollten.

Beeindruckend waren die Versuche mit Madribon^{R}. Es kam zum deutlichen SB-Abfall bei beiden Dosierungen (100/300 mg/kg), der ca. 10 Std. nach Applikation begann, 2 Tage anhielt und auch noch in gleicher Größenordnung bei Tieren im Alter von 9 Tagen auftrat, welche zuerst von einer Mutter, die kein Medikament bekommen hatte, gesäugt wurden. Hier kann man auf einen Übergang von Madribon^{R} in die Milch schließen, der nach den Vorversuchen bei ca. 10-50 mg/kg pro Rattenbaby liegen müßte.

Aus den Versuchen mit Bactrim^{R} (600 und 400 mg/kg) kann man keine direkte Beeinflussung des SB erkennen; es kommt insbesondere nicht zu einem Absinken des SB. Jedoch muß man berücksichtigen, daß die Rattenmütter durch die Injektion des Medikamentes irritiert waren und ihre Jungen einige Zeit danach nicht säugten. Die Halbwertzeit von Bactrim^{R} ist wesentlich kürzer als die von Madribon^{R}. Durch fehlende Nahrungsaufnahme in den ersten Stunden nach der Medikamentengabe an die Mütter könnte die entscheidende Phase verpaßt werden. Auch wurde in den Vorversuchen ersichtlich, daß der Abfall der SBK durch Madribon^{R} nicht nur wesentlich markanter war, sondern auch erheblich länger andauerte.

Die meisten der Hauptversuche (10 von 13) mit Isozid^{R}, Aspisol^{R} und Aspirin^{R} haben einen nicht erwarteten deutlichen Anstieg der SBK ergeben. Der Lösungsvermittler von Aspisol^{R}, direkt an junge Ratten appliziert, zeigte keine Beeinflussung der SBK. In drei Versuchen (1x Aspisol^{R} und 2x Isozid^{R}) schwankte das SB um den Ausgangswert. Es kam in keinem Fall der Versuche

mit diesen Medikamenten zu einem Abfall der SBK, woraus man auf einen Übergang in die Milch hätte schließen können. Anders ausgedrückt: sind Medikamente via Milch auf die jungen Ratten übergegangen und haben dort einen Abfall des SB bewirkt, so müßte man diesen fiktiven Abfall noch zum dem festgestellten Anstieg dazurechnen. Es kam auch bei diesen Versuchen zu Irritationen der Rattenmütter. Insbesondere im Versuch mit Aspirin^{R} zeigte sich, daß die Rattenmutter während der gesamten Versuchsdauer ihre Jungen nicht säugte. Das SB stieg stetig an, nach 48 Std. auf 187 % des Ausgangswertes. Die jungen Ratten haben kontinuierlich abgenommen. Diese Beziehung zwischen Mangelernährung und SB-Anstieg ließ sich auch in den mit Isozid^{R} und Aspisol^{R} durchgeführten Versuchen feststellen. Bei Gewichtsabnahme, Stagnation oder vermindertem Wachstum ist das SB angestiegen, bei anschließendem normalen Wachstum wieder in den Normbereich abgefallen. Interessant ist, daß diese Beziehung zwischen Gewicht und SB auch bei einer kleinen Gruppe der Kontrolltiere beobachtet werden konnte.

In einigen Vorversuchen hat sich nach Applikation von Madribon^{R}, Aspisol^{R} und Isozid^{R} gezeigt, daß es trotz Mangelernährung zum SB-Abfall durch medikamentenbedingte Verdrängung des Bilirubins vom Albumin kommen kann. Dies unterstützt die Folgerung, daß es nach Gabe von Aspisol^{R} und Isozid^{R} an Rattenmütter in den durchgeführten Untersuchungen nicht zum Übergang der Medikamente mit der Milch auf die jungen Ratten gekommen sein dürfte.

Die Aufzeichnungen der Gewichtsentwicklung der Tiere aus allen Vor- und Hauptversuchen mit Madribon^{R} und Bactrim^{R} im Vergleich zur Kontrolltiergruppe hat gezeigt, daß Madribon^{R} das Wachstum negativ, Bactrim^{R} die Gewichtsentwicklung nicht zu beeinträchtigen scheint. In den Vorversuchen mit Aspisol^{R} und Aspirin^{R} wird die Gewichtsentwicklung der jungen Tiere negativ beein-

flußt; mit Isozid^{R} nur bei hoher Dosis negativ, sonst nehmen die Tiere normal zu.

Die Kleinhirnuntersuchungen haben ergeben, daß 66,6 % der homozygoten Kontrolltiere einen leichten Kernikterus (Grad 1 bis 1-2) aufwiesen, während 33,3 % keinen bzw. nur einen fraglichen PZV hatten. Bei der Untersuchung des PZV nach Medikamentengabe wurde in altersentsprechender PZV (Grad 1 bis 1-2) und verstärkter PZV (Grad 2-3) unterteilt. Die Gehirnschnitte der Tiere nach Behandlung mit Madribon^{R} in den Vor- und Hauptversuchen haben ergeben, daß von insgesamt 25 Tieren 72 % einen verstärkten PZV hatten. Das korreliert mit dem deutlichen SB-Abfall und untermauert die Auffassung, daß das freigesetzte Bilirubin ins Gehirn diffundiert ist. Hier scheint weniger der Unterschied der Dosis, der Häufigkeit der Applikation oder das Lebensalter der Tiere bei Gehirnentnahme, als vielmehr das Alter der Tiere bei Versuchsbeginn eine Rolle zu spielen. In einem Versuch haben alle 6 Tiere einen verstärkten Kernikterus, die vom 3. Lebenstag an mit Madribon^{R} via Milch behandelt wurden, während 4 von 5 Tieren, die erst vom 9. Lebenstag an von der Rattenmutter mit Medikament gesäugt wurden, einen altersentsprechenden PZV aufwiesen, trotz eines vergleichbar starken Abfalls der SBK in beiden Gruppen.

Es zeigte sich bei den Vorversuchen mit 500 mg/kg Aspisol^{R}, daß trotz deutlichen Abfalls der SBK 75 % der Tiere einen altersentsprechenden PZV hatten. In den Hauptversuchen haben alle Tiere nach Gabe von 800 mg/kg Aspisol^{R} an die Rattenmutter einen altersentsprechenden PZV, während nach 1000 mg/kg alle Tiere einen verstärkten PZV aufweisen. In beiden Fällen ist das SB im Vergleich zu den Kontrolltieren deutlich angestiegen in Korrelation zu dem passager verlangsamten Wachstum. Die höhere Dosis kann u. U. den PZV durch Bilirubinverdrängung verstärkt haben.

Bei allen 12 aus den Hauptversuchen mit Isozid^{R} untersuchten Tieren war ein verstärkter PZV nachweisbar. Alle Tiere zeigten

einen deutlichen SB-Anstieg bei vorübergehender Mangelernährung.
Die Gehirnschnitte der 5 Tiere aus den Hauptversuchen mit Bactrim^{R} zeigten bei 3 jungen Ratten (60 %) einen verstärkten Kernikterus. Aus dem Verlauf des SB war hier weder ein Absinken noch ein Anstieg zu erkennen.

Bei der Interpretation der Ergebnisse muß man berücksichtigen, daß die Anzahl der untersuchten Tiere in den einzelnen Gruppen klein ist, und daß es zusätzliche Faktoren gibt, wie z.B. den Ernährungszustand der jungen Ratten und das Alter der Tiere bei Versuchsbeginn, die die Entstehung eines Kernikterus beeinflussen können.
Im folgenden Literaturüberblick wird versucht, Erklärungsmöglichkeiten für die Ergebnisse dieser Arbeit zu finden.

Unkonjugiertes Bilirubin wird im Blut an Albumin gebunden transportiert. Die Bindung von Alb. + Bil. $\rightleftharpoons$ Alb. - Bil. ist reversibel (21). Albumin hat zwei voneinander verschiedene Bindungsstellen für Bilirubin. Bis zu einem molaren Verhältnis von 1:1 wird Bilirubin an einer Bindungsstelle hoher Affinität mit einer Bindungskonstanten von ($K_1 = 7 \times 10^{-7}$ mol/l) gebunden. Eine zweite bindet es mit geringerer Affinität ($K_2 = 5 \times 10^{-5}$ mol/l) (21, 104). Etwa die Hälfte der zur Verfügung stehenden Bindungskapazität hoher Affinität wird durch endogene Stoffe wie freie Fettsäuren, Hämatin und Gallensäuren blockert (15). Legt man beim Neugeborenen eine mittlere Plasmaalbuminkonzentration von 3 g/dl zugrunde (2) und geht davon aus, daß 1 g Albumin ca. 15 mg Bilirubin binden kann, so ist mit ca. 25 mg/dl Bilirubin eine Sättigungsgrenze erreicht (2, 100). Seit den Beobachtungen von Silverman (94) geht man davon aus, daß Medikamente mit Bilirubin um die Albuminbindungsstelle konkurrieren. Die Bindungsstelle hoher Affinität ist nach Odell (68) hydrophob und Bilirubin kann von ihr nur durch endogene Stoffe verdrängt werden. Die Bindungsstelle niedriger Affinität ist dagegen hydrophil. Von ihr kann Bilirubin durch wasserlösliche organische Anionen wie Salicylate

und andere Medikamente freigesetzt werden (68). Hier können mehrere Substanzen mit Bilirubin um die Bindungsstelle konkurrieren. Nach Brodersen (18) können Medikamente - im Gegensatz zu Odells Auffassung - Bilirubin auch von der Bindungsstelle hoher Affinität freisetzen. Er hat gezeigt, daß die kompetitive Verdrängung von Bilirubin aus der Albuminbindung mit der Gleichung

$$\delta = K_D \times d + 1$$

abgeschätzt werden kann (20, 21). δ beschreibt den "Maximal Displacement Factor), welcher das Verhältnis von an den Rezeptor gebundenem Bilirubin vor und nach Medikamentengabe angibt, K_D die Bindungskonstante der Medikamente für die Bilirubinbindungsstelle ist und d die Konzentration der ungebundenen Medikamente im Plasma angibt (20, 21). K_D ist eine konstante Größe und wurde von Brodersen mittels der Peroxidase-Technik für 150 Medikamente bestimmt (18, 21). Sie beträgt für Aspirin® $5{,}3 \times 10^{-2}$ mol/l, für Sulfadimethoxin = Madribon® $9{,}6 \times 10^{-4}$ mol/l sowie für Bactrim® = Sulfamethoxazol $3{,}9 \times 10^{-3}$ mol/l + Trimethoprim 1×10^{-3} mol/l (20, 22). Die von Brodersen beschriebene Gleichung zeigt, daß das Ausmaß der Bilirubinverdrängung vom Albumin einerseits von der Konzentration der im Plasma gelösten Medikamente abhängig ist und andererseits von der Affinität einer Substanz zum Albumin, wobei Bilirubin die weitaus höhere Affinität zum Albumin hat (20, 21). Unkonjugiertes Bilirubin kann auch von Erythrozyten gebunden werden (69). Bratlid konnte bei in-vitro Studien ein Ansteigen des an Erythrozyten gebundenen Bilirubins durch verdrängende Medikamente nachweisen (16). Untersuchungen mit verschiedenen Antibiotikapräparaten haben weiterhin ergeben, daß Bilirubin in der Lage ist, Medikamente aus der Eiweißbindung freizusetzen (17). Schon Silverman (94) diskutierte in seinen Untersuchungen, daß möglicherweise nicht nur Sulfisoxazol, sondern auch dessen Stabilisator für den Abfall der SBK verantwortlich sei. Schiff und Mitarbeiter (86), Windorfer und Mitarbeiter (106) sowie Stern (98) konnten am Beispiel von Diazepam mit der Sephadex-Gel-Filtrationsmethode nachweisen, daß nicht die Wirksubstanz, sondern der Stabilisator (z.B.Natriumbenzoat) Bilirubin von

seiner Bindungsstelle freisetzt. Ballowitz und Hanefeld (3) untersuchten den Einfluß verschiedener Antibiotika auf die Bilirubin-Albumin-Bindung an jungen Gunn Ratten. Sie fanden z.B. bei den 3 untersuchten Sulfonamiden einen deutlichen Abfall der SBK und brachten die Menge des verdrängten Bilirubins mit der Eiweißbindung der Medikamente in Zusammenhang (3). Die Methode, welche diesen Untersuchungen zugrunde liegt, wurde auch bei dieser Arbeit angewandt.

Nach den Ergebnissen der vorstehenden Untersuchungen kann man davon ausgehen, daß Medikamente und deren Lösungsvermittler Bilirubin aus seiner Bindung am Albumin verdrängen können und umgekehrt Bilirubin Medikamente aus deren Eiweißverbindung freisetzen kann. Diese Wechselwirkungen von Medikamenten und Bilirubin am Albumin können einerseits durch freigesetztes Bilirubin das Risiko einer Bilirubinencephalopathie und andererseits unerwünschte Nebenwirkungen durch den Anstieg der freien Medikamentenkonzentration bewirken.

Beim neugeborenen Kind wird von einer Korrelation zwischen Höhe der SBK und dem Auftreten eines Kernikterus ausgegangen (2, 106). Jedoch ist eine exakte Vorhersage, von welcher SBK an sich ein Kernikterus entwickelt, auch heute noch nicht möglich (104), ebenso wie die toxische Wirkung des Bilirubins noch nicht in allen Einzelheiten bekannt ist (2, 37). Zahlreiche Faktoren können das Entstehen einer Bilirubinencephalopathie beeinflussen (20). Durch Hypoxie, Azidose (27, 33, 38, 92, 99) und Infektionen (72) sinkt die Affinität des Bilirubins zum Albumin, wodurch Bilirubin freigesetzt werden kann; jedoch wird nach Jacobsen und Brodersn (43) die Bindugnsstelle hoher Affinität durch das Absinken des pH nicht beeinträchtigt. Hypalbuminämie (2) bedingt eine verminderte Bindungskapazität für Bilirubin beim Neu- und Frühgeborenen und die relative Unreife und/oder Schädigung der Bluthirnschranke (33, 44, 104) ermöglicht eine Penetration von Bilirubin ins Gehirn, so daß man Korrelationen zwischen Serum- und Liquor-Bilirubinkonzentrationen beim Neugeborenen (27), nicht aber beim Erwachsenen finden kann (104).

Freies unkonjugiertes Bilirubin wird von den meisten Autoren als alleiniges zyto-neurotoxisches Agens angesehen; neuere Untersuchungen hinterfragen dieses Konzept.
Mit in-vitro Studien von Odell an Mitochondriensuspensionen (64) und Silberberg und Mitarbeitern an Gewege- und Zellkulturen des Kleinhirns (92) konnte gezeigt werden, daß an Albumin gebundenes Bilirubin keine toxische Wirkung im Gegensatz zu freiem unkonjugierten Bilirubin hat. In-vivo Studien von Diamond und Schmid (27) an jungen Meerschweinchen und erwachsenen Gunn Ratten mit C^{14}-markiertem Bilirubin ergaben, daß nur ungebundenes Bilirubin die Blut-Hirn-Schranke passieren kann und toxisch ist. Nach Brodersen (21) werden durch Aufbrechen des Porphyrin-Ringes an unterschiedlichen Positionen verschiedene Bilirubin-Isomere gebildet. Beim Menschen können sich folgende Formen bilden, IX-α(Z), IX-β , IX-γ, IX-α(E), wobei IX-α(Z) konjugiert mit Gluconsäure, Glucose oder Xylose vorliegen kann. Nach Brodersen ist nur IX-α(Z)-Bilirubin, wegen seiner intramolekularen Wasserstoffbrücken schlecht wasserlöslich und neurotoxisch (21).
Levine und Mitarbeiter (53, 54) vertreten die Auffassung, die von Lucey (57) unterstützt wird, daß Bilirubin nicht ausschließlich in ungebundener Form, sondern auch als Albumin-Bilirubin-Komplex ins Gehirn gelangen kann. In Versuchen mit erwachsenen Osborn-Mendel-Ratten konnte nach einseitiger reversibler Öffnung der Blut-Hirn-Schranke mittels hyperosmolarer Lösung gezeigt werden, daß infundiertes, an Albumin gebundenes Bilirubin, ins Gehirn penetrierte und diese Gehirnhälfte deutlich gelb färbte (54). Die Verteilung des Bilirubins war mit der bei neugeborenen Kindern mit Kernikterus gefundenen vergleichbar (54). Sie diskutierten die Möglichkeit, daß nicht die Unreife der Blut-Hirn-Schranke entscheidendes Kriterium ist, sondern daß die Blut-Hirn-Schranke durch ischämisch-anoxische Zustände, andere Krankheiten sowie evtl. durch Medikamente wie Sulfonamide für freies und albumingebundenes Bilirubin durchlässiger wird (54). Daraus resultiert die Forderung, ein Maß zur Beurteilung der Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke zu finden (57).

Silverman (94) und Harris (38) beobachteten bei niedrigen SBK das Auftreten eines Kernikterus. Exogene (z.B. Medikamente) und endogene (z.B. Fettsäuren) Substanzen als mögliche Konkurrenten mit Bilirubin um seine Albuminbindung, die ein Absinken der SBK bewirken können, wurden beschrieben. Unzureichende Nahrungszufuhr bzw. Hunger und dadurch bedingte Hypoglykämie bewirken via Lipolyse ein Ansteigen der freien Fettsäuren (FFS) im Blut (2, 24).

Johnson et al (45) berichten schon, daß nicht nur die SBK, sondern andere Faktoren wie Infektionen und Mangelernährung mit einem Anstieg der Kernikterus-Rate bei Gunn Ratten assoziiert sind (45). Sie beobachteten bei jungen und alten Gunn Ratten nach intravenöser Gabe von Fettsäuren ein Absinken der SBK und Anstiegen der Kernikterus-Incidenz und erklärten dies mit der Verdrängung von Bilirubin aus der Albuminbindung und Anreicherung im Gehirn. Nach Brodersen (21, 22, 23) können FFS Bilirubin von seiner Bindungsstelle hoher Affinität bei Überschreiten eines molaren Verhältnisses von 4:1 verdrängen, während Gartner und Lee (32) annehmen, daß dies schon bei Überschreiten eines molaren Verhältnisses von 3:1 geschieht. Sie glauben, daß FFS als carrier für Bilirubin ins ZNS dienen, nachdem sich ein FFS-Bili-Komplex gebildet hat (32).
Hungerzustände müßten demnach über ein Ansteigen der FFS zu einem vorübergehenden Ansteigen des freien Bilirubins, welches dann entweder ins Gewebe diffundiert oder transportiert wird, und Absinken der Gesamtbilirubinkonzentration (GB) führen.

Die Rattenmilch ist besonders fettreich, ca. 15 % (105). Bei Hungerzuständen kommt es bei diesen Tieren nicht generell zu einem Anstieg der freien Fettsäuren.

Sato und Semba (83, 84) haben in Versuchen mit 15 Tage alten Gunn Ratten bei einem vorübergehenden Nahrungsentzug von 16 Std. festgestellt, daß die Tiere mit Nahrungsentzug deutlich niedrigere Konzentrationen von FFS im Blut aufwiesen als normal gesäugte. Ferner ergab sich ein Anstieg der mittleren GB auf

12,44 mg/dl, während eine Kontrollgruppe weiterhin gesäugter Tiere ein GB von 8,17 mg/dl hatte. Das ungebundene Bilirubin (UB) im Plasma der Tiere mit Nahrungsentzug lag mit 0,10 mg/dl niedriger als das der Kontrollgruppe mit 0,47 mg/dl. Die Autoren konnten zeigen, daß die Bilirubinkonzentration im Kleinhirn bei den Tieren mit Nahrungsentzug signifikant höher war als bei den normal ernährten Tieren (84), was nicht mit den Konzentrationen des UB im Plasma korrelierte. Das Ansteigen des GB bei den Tieren mit Nahrungsentzug soll durch einen erhöhten Bilirubin-Transfer vom Gewebe ins Plasma zustande kommen (83). Die Ergebnisse dieser Autoren zeigen Parallelen zu meinen Befunden.

Das Risiko einer Bilirubinencephalopathie kann durch Medikamente in der Muttermilch erhöht werden. Der Übergang von Medikamenten in die Milch ist von verschiedenen Faktoren abhängig (76). Zunächst muß man berücksichtigen, daß die Eiweißbindung für Medikamente im Plasma höher ist als die Bindung an Milcheiweiß (76). Im Plasma steht der gelöste Arzneimittelanteil mit dem proteingebundenen in einem gewissen Gleichgewicht (77). Sinkt der Anteil an freien Medikamenten, so werden gleich proteingebundene Anteile freigesetzt, um das alte Gleichgewicht wieder herzustellen (30). Nach Vorherr (102) können nur ionisierte und nichtionisierte Substanzen in freier Lösung die Blutkapillaren verlassen, um via interstitielle Flüssigkeit in die Drüsenepithelien zu gelangen. Anderson (1) beschreibt die Milch als eine Art "oil in water emulsion", in welcher Fette, Zucker, Elektrolyte und Proteine gelöst sind. Diese Emulsion ist vom Blutplasma durch eine lipoide, semipermeable Membran getrennt, welche kleine Poren hat, durch die Wasser, Elektrolyte und kleine wasserlösliche Moleküle passieren können (1. 76). Größere Moleküle, wie die meisten Medikamente, passieren diese Membran via Diffusion, für einige wird ein aktiver Transportmechanismus angenommen (1) und kleine Mengen gelangen durch intrazelluläre Spalten in die Milch (102). Diffusion ist ein passiver Transportprozess, welcher mit einem Konzentrationsgradienten einhergeht, während ein aktiver Transport gegen einen Konzentrationsgradienten stattfinden kann. Medikamente können demnach auch von der Milch

zurück ins Plasma diffundieren, wenn dort die Konzentration abgesunken ist (1). Nach Anderson ist die Diffusion zwischen Plasma und Milch ein dynamischer Prozess (1). Die Durchlässigkeit der Plasmamembran ist gering für ionisierte und groß für nichtionisierte und fettlösliche Substanzen (1, 102). Da Muttermilch in den Milchfetten eine Lipidphase hat, können fettlösliche Medikamente sich darin in höheren Konzentrationen als im Plasma anreichern (1). Der Fettgehalt der Muttermilch ist tageszeitlichen und ernährungsbedingten Schwankungen unterworfen (76) und ist morgens am höchsten. Die Milch der hinteren Drüsenanteile (Nachmilch) enthält bis zu 3mal mehr Fett als die Milch der vorderen Drüsenanteile (1). Für den Übergang eines Medikamentes vom Blut in die Muttermilch ist auch die pH-Differenz beider Gewebe wichtig, deren pH-Werte normalerweise für Blut bei 7,4 und Muttermilch bei 7,0 liegen (1, 76). Die Muttermilch gilt als Ionenfalle für schwache Basen (pKa < pH der Muttermilch), während das Plasma als Ionenfalle für schwache Säuren (pKa > pH des Plasmas) gilt (1, 76). Basen dissoziieren im relativ zum Blutplasma sauren Milieu der Muttermilch, liegen in ionisierter Form vor und erreichen dort gleiche oder höhere Konzentrationen als der freie Anteil im Plasma (1, 75, 76). Säuren dissoziieren im Plasma und können in ionisierter Form schwerer die Plasma/Milch-Membran per Diffusion passieren. Lien (56) kalkulierte Milch/Plasma-Relationen (M/P-R) und fand heraus, daß die berechneten Werte mit experimentell gewonnenen Werten übereinstimmten. Bei Zugrundelegung eines Milch-pH von 6,8 und Plasma-pH von 7,4 errechnete er für saure Medikamente mit pKa zwischen 2 und 7 eine M/P-R von kleiner 1,0 und für pKa-Werte zwischen 8 und 10 eine M/P-R von 1,0. Für basische Medikamente mit pKa 2 bis 6 eine M/P-R von 1,0, bei pKa 7 von 2,0, bei pKa 8 von ca. 3,3 und bei pKa 9 und 10 von 4,0 (56). Bei einer Untersuchung, die den Übergang von Theophyllin in die Muttermilch zum Gegenstand hatte, wurden beträchtliche Variationen bei den pH-Werten der Muttermilch (6,4 bis 7,6) gemessen, was die Verteilung eines Medikamentes zwischen Blut und Milch beeinflussen kann (110).

Die Höchstkonzentrationen für Medikamente in Milch und Plasma können zeitlich divergieren. Bei einer Substanz, die langsam in die Milch diffundiert, ist die Rückdiffusion ebenfalls langsam. Hier kann die Plasmakonzentration schon abfallen, wenn die Spitzenkonzentration in der Milch erreicht ist (1).

Berücksichtigen muß man nach Anderson auch die Halbwertzeit (HWZ) eines Arzneimittels im Plasma der Mutter. Medikamente mit kurzer HWZ und langsamer Diffusion gelangen nur in niedrigen Konzentrationen in die Milch (1). Medikamente, die schnell diffundieren und basisch sind, können in hohen Konzentrationen in die Milch gelangen (76). Es stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Plasma und Milch ein, welches für die einzelnen Medikamente in Bezug auf Konzentration und Zeit stark variieren kann (76, 78).

Beträchtlich erhöhen kann sich die Konzentration der Medikamente in der Muttermilch, wenn bei der Mutter eingeschränkte Metabolisierungs- und Eliminationsleistungen bei Leber und/oder Nierenschaden vorliegen (76), und die Brustdrüse zum Ausscheidungsorgan für Medikamente wird (49). Das Trinkverhalten des Säuglings beeinflußt die Menge der Medikamente, die resorbiert werden können. Hierfür ist wichtig, ob zu Zeiten hoher oder niedriger Konzentration gestillt wird und wieviel Milch er trinkt. Die durchschnittliche tägliche Trinkmenge wird mit 165 ml/kg (76) bzw. 500-700 ml/Tag (107) angenommen. Bei reifen männlichen Neugeborenen im Alter von 8-13 Tagen lag die mittlere Trinkmenge bei 122-208 mg/kg (1), was auf individuelle Variabilität hinweist. Geht man davon aus, daß ein Neugeborenes 6x80 ml, ein anderes 6x120 ml trinkt, so verdeutlicht dies, daß die größere Trinkmenge einen erheblichen Einfluß auf die dem Kind mit der Milch angebotene Arzneimittelmenge haben kann (76).

Die Resorptionsmenge von Arzneimitteln bei Neugeborenen und jungen Säuglingen im Vergleich zu älteren Kindern zeigte keinen Unterschied (77), jedoch war die Resorptionsgeschwindig-

keit bei den Neugeborenen verzögert und damit die Bioverfügbarkeit reduziert (77). Da der Albumingehalt und die Eiweißbindung der Medikamente im Plasma Neugeborener niedriger als bei Erwachsenen ist (39), wird der freie Anteil höher (77), was der durch die verlangsamte Resorption reduzierten Bioverfügbarkeit entgegenwirkt. Jedoch muß man berücksichtigen, daß der extrazelluläre Flüssigkeits- und damit Verteilungsraum für Medikamente mit 40 % des Körpergewichtes bei Neugeborenen gegenüber 20 % des Körpergewichtes beim älteren Kind deutlich größer ist (34), wodurch die Dosierung/kg/KG beim Neugeborenen höher sein muß, um vergleichbare Plasmaspiegel zu erhalten.
Bei Neugeborenen sind Leber und Nieren unreif (speziell bei Frühgeborenen), wodurch Metabolisierungs- und Eliminationsleistung für Arzneimittel reduziert sind. Dies hat zur Folge, daß die Halbwertzeiten für Medikamente gegenüber Erwachsenen verlängert sind (77), und es dadurch zu einer Akkumulation kommen kann (34, 78). Reinhardt und Mitarbeiter (78) haben starke intra- und interindividuelle Schwankungen der Halbwertzeiten beschrieben. Sie geben für Digoxin Halbwertzeiten für Säuglinge zwischen 28 und 58 Std. und für Theophyllin zwischen 15 und 40 Std. an. Nach einer mütterlichen Therapie mit 3x320 mg Theophyllin/Tag ist bei einer HWZ bei dem Kind von 20 Std. mit therapeutischen und bei einer HWZ von 40 Std. mit toxischen Serumkonzentrationen im Säugling zu rechnen (78).

Insgesamt zeigen die vorgestellten Einflußmöglichkeiten, daß nicht aus einmalig bestimmten Milch/Plasma-Konzentrationen auf zu erwartende Serumkonzentration beim gestillten Säugling sowie Nebenwirkungen geschlossen werden kann. Neben der translaktalen Arzneimittelkinetik müssen Arzneimittel- und mütterliche Faktoren sowie pharmakokinetische Besonderheiten des Kindes berücksichtigt werden (78).

Für die in dieser Arbeit untersuchten Medikamente werden zum Teil stark divergierende Milch-Plasma-Relationen beschrieben. Es ist schwierig, die unterschiedlichen Werte miteinander zu

vergleichen, da z. T. Angaben zur applizierten Dosis, Plasma- und Milch-pH-Werten fehlen sowie unterschiedliche pKa-Werte für die gleichen Substanzen angegeben werden. Acetylsalicylsäure (ASS) ist eine starke Säure (1, 76), Sulfadimethoxin (SDM) und Sulfamethoxazol (SMZ) sind schwache Säuren (1, 105), während Trimethoprim (TMP) eine starke Base (1) und Isonikotinsäurehydrazid (INH) eine schwache Base ist (102).
Demnach müßte ASS im Plasma unter physiologischen Bedingungen nahezu vollständig dissoziieren und sich nur in geringen Mengen in der Milch anreichern. Anderson (1) beschreibt eine M/P-R von 0,2 - 0,3 bei einem pKa von 3,0. Jedoch werden von Vorherr (101, 102) mit 0,5 und Wilson (105) mit 0,6 - 1,0 weitaus höhere M/P-R angegeben. Nach Levy (55) werden nach einmaliger Gabe von 20 mg/kg Aspirin^{R} - bei einem Gewicht von 60 kg entspräche dies 1200 mg - an eine stillende Mutter ca. 3-4 mg via Milch vom Neugeborenen aufgenommen. Wenn die Mutter z.B. wegen rheumatoider Arthritis 4x täglich diese Dosis einnimmt, so würden ca. 12-16 mg/Tag vom Neugeborenen aufgenommen. Erikson et al (29) untersuchten bei einer 25jährigen Mutter mit rheumatoider Arthritis, die tgl. 4 g Aspirin^{R} einnahm, Plasma- und Milchkonzentrationen bei der Mutter und den Serumspiegel beim Kind. Im mütterlichen Plasma fanden sie 18 mg/dl, in Milch und Plasma des Kindes waren Salicylate nicht nachweisbar. Püttner und Mitarbeiter (73) bestimmten nach einmaliger Gabe von 1 g Colfarit^{R} an 8 stillende Mütter die Konzentrationen von Salicylsäure und Salicylursäure in Plasma und Milch der Mutter und fanden, daß selbst zum Zeitpunkt maximaler Milchspiegel nach 6 Stunden nur etwa 0,25 mg Salicylsäure vom Säugling aufgenommen werden (73).

Für SDM werden von Wilson bei einem pKa von 5,9 M/P-R bei Blut-pH von 7,35 in Abhängigkeit vom Milch-pH angegeben. Bei einem Milch-pH von 7,0 gleich 0,47, bei Milch-pH von 7,25 gleich 0,8 (105).

SMZ mit pKa 5,7 unter gleichen Bedingungen wie SDM untersucht, ergibt nach Wilson (105) bei einem Milch-pH von 7,0 eine M/P-R

von 0,46 und bei pH von 7,25 eine M/P-R von 0,8. Windorfer (107) beschreibt eine M/P-R von 1,0.

Nach Anderson (1) dissoziiert die relativ starke Base TMP mit pKa 7,6 im "sauren" Milieu der Muttermilch, kann ionisiert schlecht rückdiffundieren und reichert sich dort an. Er gibt eine M/P-R von 3,7 bei Blut-pH 7,4 an. Wilson beschreibt bei einem Blut-pH von 7,35 und pKa von 6,4 eine M/P-R bei Milch-pH 7,0 von 1,12 und bei Milch-pH 7,25 von 1,03 (105).

Vorherr (102) fand für INH in Milch und Plasma bei Blut-pH 7,4 und Milch-pH 7,0 annähernd gleiche Konzentrationen. Windorfer (107), Knowles und Mitarbeiter (48) und Wilson (105) geben für INH die M/P-R mit 1,0 an. Berlin und Mitarbeiter (11, 12) haben nach simultan durchgeführten Plasma- und Milchuntersuchungen die doppelte Konzentration von INH in der Milch gegenüber dem Plasma festgestellt, was einer M/P-R von 2,0 entspricht. Für den Metaboliten Ac INH wurde eine M/P-R von 1,0 ermittelt (11).

Die Säuren SDM und SMZ erreichen bei ansteigendem Milch-pH eine höhere Medikamentenkonzentration in der Milch und umgekehrt sinkt die Konzentration der Basen in der Milch, wenn der Milch-pH ansteigt (105), was das Konzept der Ionen-Falle bestätigt.

Die gewonnenen Ergebnisse werden nun zusammen mit den dargestellten Erklärungsmöglichkeiten betrachtet.

Die Bilirubinkurve der Kontrolltiere zeigte ein langsames Ansteigen der SBK. Nach Schutta und Johnson steigt bei den Gunn Ratten das SB nach der Geburt stark an, liegt am 2.-4. Tag durchschnittlich bei 7 mg/dl, am 8.-10. Tag bei 8 mg/dl und erreicht den höchsten Punkt mit 10-13 mg/dl am 14.-16. Tag (44, 91). Das SB bei Kontrolltieren in Untersuchungen von Korn (50) ist durchschnittlich von 8,81 mg/dl $\pm$ 2,15 (5. Tag) bis 10,14 mg/dl $\pm$ 1,80 (10. Tag) angestiegen. Die von mir ermittelten durchschnittlichen SBK von 8,01 mg/dl $\pm$ 1,54 (4. Tag) bis 8,84 mg/dl

± 1,18 (12. Tag) liegen im Bereich der Werte von Schutta und Johnson und etwas niedriger als die Werte von Korn.
Die Eiweißbindung (EB) der Medikamente soll in Bezug zum Absinken der SBK bei den Vorversuchen gestellt werden. Bei SDM, was bis zu 98 % an Eiweiß gebunden wird, zeigte sich schon nach täglichen oralen Gaben von 5 mg/kg an junge Gunn Ratten für 11 Tage ein Abfall der Serumbilirubinkonzentration von 60 %. Nach einmaliger Gabe von 10 mg/kg war die SBK nach 3 Std. um 40 %, nach 24 Std. um 45 % gesunken, während nach 50 mg/kg das SB nach 3 Std. um 70 % und nach 24 Std. um 81 % gesunken war. Der deutliche Abfall der SBK in Abhängigkeit von der Dosis ist sicherlich auf die hohe EB von SDM zurückzuführen und wurde schon von Davis und Yeary (26) nach Gabe von 25 und 50 mg/kg sowie von Ballowitz und Hanefeld (3) nach Gabe von 100, 300 und 600 mg/kg beschrieben. Schutta und Johnson (91) konnten nach s.c.-Gabe von 150 mg/kg SDM bei 1-28 Tage alten Gunn Ratten und SB-Ausgangswerten zwischen 5,0 und 12,0 mg/dl einen Abfall der SBK auf weniger als 1,0 mg/dl feststellen. Korn (50) beschreibt nach Injektion von 100 mg/kg SDM bereits nach 5 Min. einen SB-Abfall von 50 %, nach 1 Std. von 67 %. Slama (96) konnte mit einer Gabe von 50 mg/kg SDM den SB-Spiegel nach 30 Min. um ca. 60 % und nach 3 Std. um ca. 75 % senken. Bei höheren Dosen (100/300 mg/kg) unterschieden sich der SB-Abfall nach 30 Min. und 3 Std. nicht von der niedrigeren Dosis; nach 24 Std. war der SB-Abfall - in Abhängigkeit von der Dosierung - größer bei der höheren Dosis. Die in meiner Arbeit ermittelten Werte unterstützen somit die bisher veröffentlichten Ergebnisse zu SDM, welches Bilirubin stark aus seiner Albuminbindung zu verdrängen vermag.

Die EB des Kombinationspräparates Bactrim^{R} liegt für die einzelnen Komponenten (S:T = 5:1) SMZ bei 65-70 % und TMP bei 45 %. Die Sulfonamidkomponente ist mit dem Gantrisin^{R} (Sulfisoxazol)vergleichbar, welches bereits von Johnson (44) als stark bilirubinverdrängendes Sulfonamid in Versuchen mit Gunn Ratten beschrieben wurde. Jedoch ist die EB von Gantrisin^{R} mit 85 % (31) und die Bindungskonstante mit 1,9 $\times 10^{-4}$ mol/l

gegenüber SMZ 3,9 x 10^{-3} mol/l höher (20). Nach oraler Gabe von 10 mg/kg Bactrim^{R} an junge Gunn Ratten war die SBK nach 30 Min. um 10 % und nach 1 Std. um 15 % gesunken. Nach 100 mg/kg sank das SB nach 30 Min. um 26 %, nach 1 Std. um 31 % ab. Diese Ergebnisse zeigen eine dosisabhängige Verdrängung des Bilirubins aus der Albuminbindung. In-vitro Studien von Springer et al mit Sephadex-Gel-Filtration ergaben, daß Bilirubin aus seiner Albumin-Bindung erst verdrängt wird, wenn die Konzentration von SMZ 300 : TMP 60 yg/ml überschritten wird (97).
INH hat eine EB von 20-30 %. Nach oraler Gabe von 100 mg/kg war das SB nach 30 Min. um 11 bzw. 14 % abgesunken und nach 3 Std. wieder auf den Ausgangswert angestiegen. 400 mg/kg bewirkten ein Absinken nach 30 Min. um 21 % und nach 3 Std. um 33 %. Es hat sich auch bei diesem Medikament gezeigt, daß Bilirubin, abhängig von der INH-Dosis, aus seiner Bindung zum Albumin freigesetzt wird. Es konnten jedoch keine vergleichbaren Angaben in der Literatur gefunden werden.

In-vitro Studien von Odell (63) haben ergeben, daß Salicylate in der Lage sind, Bilirubin vom Albumin zu verdrängen. Johnson et al (45) fand bei Gunn Ratten nach s.c.-Injektion von 80 mg/kg/Tag an 7 Tagen einen SB-Abfall von 70 %. Salicylate können nach Brodersen (19) an Bindungsstellen hoher Affinität am Albumin gebunden werden, ohne mit der Bilirubinbindungsstelle zu interferieren. Erst nach Überschreiten der Sättigungsgrenze dieser Bindungsstellen können sie Bilirubin kompetitiv vom Albumin verdrängen. Nach ihm haben niedrigere Dosen keinen oder einen kleinen Effekt, während hohe Salicylat-Dosen eine Zunahme der Bilirubinverdrängung mit Absinken der SBK bewirken. Diamond und Schmid (27) beobachteten an Gunn Ratten nach Gabe von hohen Dosen Salicylat einen deutlichen Abfall der SBK. Nach oraler Gabe von 250, 500 und 1000 mg/kg Aspirin^{R} konnte ich einen SB-Abfall z. B. nach drei Stunden zwischen 25 und 34 % messen. Er war deutlicher nach hohen Dosen und auch länger anhaltend. Aspisol^{R} bewirkt ein stärkeres Absinken der SBK als Aspirin^{R}. Auch hier war bei steigender Dosis (10, 80, 500, 1000 und 2000 mg/kg) ein zunehmender

SB-Abfall zu messen. Das SB war z. B. nach 3 Std. zwischen 9 und 94 % abgesunken. Der verdrängende Effekt war anhaltender bei steigender Dosierung und korreliert mit der schon beschriebenen längeren HWZ für Salicylsäure bei hohen Dosen (74). Die Ergebnisse stehen in Einklang mit der von Brodersen beschriebenen dosisabhängigen Wirkung von Salicylat auf die Bilirubin-Albuminbindung.

Insgesamt haben alle untersuchten Medikamente ein Absinken der SBK bewirken können. Der Einfluß auf die Albumin-Bilirubin-Bindung war um so größer, je höher die EB und Bindungskonstante der Medikamente war. Ein deutlicher Unterschied in der verdrängenden Potenz zeigte sich zwischen Aspirin^{R} und Aspisol^{R}, der nicht durch den Aspisol^{R}-Stabilisator Glycin bedingt ist. Worin der Unterschied begründet ist, müßte in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Am einleuchtendsten wäre eine bessere enterale Resorption der ASS aus dem Aspisol^{R}.

JHA und Banerjee (42) bestimmten die Plasma- und Milchkonzentration im zeitlichen Verlauf von Freiem (F)- und Gesamten (G) SDM bei Ziegen nach oraler Gabe von 286 mg/kg. Sie fanden nach 2 Std. das erste SDM in der Milch. Die Höchstkonzentration an F und G-SDM in Plasma und Milch war zwischen 8 und 12 Std. nach Applikation erreicht. Die SDM-Konzentration der Milch gegenüber der korrespondierenden Plasmakonzentration lag für F bei 6,2 % und für G bei 6,6 % zum Zeitpunkt maximaler Spiegel. Wilson (105) gibt für SDM eine M/P-R bei Milch-pH 7,0 von 0,47 und bei Milch-pH 7,25 von 0,8 an. Dies liegt weit über den von JHA und Banerjee gemessenen Werten. Sisodia (95) konnte in Versuchen mit Kühen nachweisen, daß die Applikationsform einen Einfluß darauf hat, wie lange Sulfonamide in der Milch nachweisbar sind. Nach oraler Gabe von 214 mg/kg SDM konnte es bis zu 120 Std. nachgewiesen werden, während 96 Std. nach i.v.-Gabe kein SDM mehr in der Milch gefunden wurde. Der Beginn des SB-Abfalls in den Versuchen dieser Arbeit bei jungen Gunn Ratten ca. 10 Std. nach Injektion von 300 mg/kg an die Rattenmutter korreliert mit der von JHA et al (42) gemesse-

nen Höchstkonzentration in der Milch bei Ziegen. Legt man auch bei jungen Ratten eine verlängerte HWZ (77) für Medikamente zugrunde, so kann die Milch 96 Std. nach i.v.-Injektion zwar frei von SDM sein (95), aber durch Akkumulation (34) in den jungen Ratten hält der bilirubinverdrängende Effekt über diesen Zeitpunkt hinaus an. Dies wurde in allen durchgeführten Hauptversuchen mit 100 und 300 mg/kg SDM festgestellt. Die SDM-Konzentration, die mit der Milch auf die jungen Ratten überging, lag zwischen 10 und 50 mg/kg/Rattenbaby. Bei den Versuchen mit 100 mg/kg etwas niedriger als nach 300 mg/kg. Vergleichbare Zahlen wurden in der Literatur nicht gefunden.

Die M/P-R von SMZ und TMP wurden bereits vorher beschrieben. Danach reichert sich TMP stärker als SMZ in der Milch an. In den Hauptversuchen dieser Arbeit konnte kein SB-Abfall gemessen werden. Entweder war die Anreicherung von TMP und SMZ in der Rattenmilch so gering, die Resorption bei den jungen Ratten so niedrig, daß die Medikamentenkonzentration nicht ausreichte, um Bilirubin zu verdrängen, oder, durch die beschriebene Irritation der Rattenmütter nach Injektion der Medikamente und das Nichtsäugen ihrer Jungen, war TMP und SMZ bereits zum größten Teil von der Rattenmutter metabolisiert und ausgeschrieden, bevor die Jungen wieder Milch erhielten. Den in der Literatur beschriebenen Übergang von SMZ und TMP in die Milch konnte ich mit meinen Versuchen nicht bestätigen.
Die in der Literatur angegebene M/P-R für ASS schwanken zwischen 0,2 und 1,0 und für INH zwischen 1,0 und 2,0 wie bereits vorher beschrieben. Nach den Ergebnissen der eigenen Versuche muß davon ausgegangen werden, daß diese beiden Medikamente nicht in die Milch übergegangen sind, oder in so geringen Mengen, daß sie kein Absinken der SBK bewirken konnten. Das Gegenteil, ein deutliches Ansteigen der SBK in Abhängigkeit von passagerer Mangelernährung, welche durch Irritation der Rattenmütter nach der Medikamentenapplikation bedingt war, wurde festgestellt.

Ein Ansteigen der Gesamtbilirubinkonzentration hatten auch schon Sato und Semba (83, 84) bei jungen Gunn Ratten nach 16 Stunden Fasten gesehen. Sie erklärten dies, wie schon auf Seite 93 erwähnt, mit der Rückdiffusion von Bilirubin aus dem Gewebe, nach Absinken des ungebundenen Bilirubins im Plasma. Sie stellten auch fest, daß bei den Tieren mit vorübergehendem Nahrungsentzug im Kleinhirn eine signifikant höhere Bilirubinkonzentration, verglichen mit normal gesäugten Tieren, nachweisbar war (84).
Die Ergebnisse der Hirnschnittuntersuchungen nach Gabe von INH an Rattenmütter korreliert mit dieser Beobachtung. Alle 12 untersuchten Kleinhirne zeigen einen verstärkten PZV. Wenn Bilirubin nach Fasten aus dem Gewebe zurückdiffundiert, was zum Ansteigen des Gesamtbilirubins führt (84), so bleibt doch die Frage, wieso bei diesen Tieren höhere Bilirubinkonzentrationen im Kleinhirn gefunden wurden. Diese Frage bleibt auch von Sato und Semba unbeantwortet.

Widersprüchlich sind die Ergebnisse nach Aspisol^{R}-Gabe. In einer Gruppe war der PZV nach Gabe an die Rattenmutter altersentsprechend, in einer weiteren wurde ein verstärkter PZV festgestellt bei in beiden Gruppen vergleichbarem vorübergehend angestiegenen SBK. Nach direkter Applikation von Aspisol^{R} an junge Ratten war trotz deutlichem SB-Abfall der PZV bei 75 % der Tiere altersentsprechend, obwohl hier nach Freisetzen des Bilirubins aus seiner Albuminbindung und möglicher Diffusion ins Gehirn (27) ein verstärkter PZV hätte erwartet werden können.

Nach Bactrim^{R}-Gabe an eine Rattenmutter war bei 3 Tieren ein verstärkter PZV, bei 2 Tieren ein altersentsprechender Kernikterus nachweisbar bei normalem SB-Verlauf.
Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muß man jedoch zurückhaltend sein, da in sich schon kleine Gruppen noch in 2 Untergruppen unterteilt wurden, was die Aussagefähigkeit der Ergebnisse unter Umständen fraglich werden läßt.

Nach Madribon^{R}-Gabe direkt an junge Gunn Ratten oder Rattenmütter wurde bei 72 % von 25 untersuchten Gehirnen ein verstärkter PZV festgestellt. Dies steht in Zusammenhang mit dem deutlichen SB-Abfall und unterstützt die Auffassung, daß freigesetztes Bilirubin ins Gehirn abgewandert ist und neurotoxisch gewirkt hat. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit Untersuchungen von Schutta und Johnson (91), Davis und Yeary (26), Ballowitz (5) und Hanefeld und Natzschka (36, 37), die alle nach SDM-Gabe an Gunn Ratten in unterschiedlichen Dosierungen einen SB-Abfall und Zunahme des Kernikterus beschreiben.

Die Ergebnisse der Gehirnschnitte möchte ich so bewerten, daß sie für Madribon^{R} mit dem Bilirubinverlauf übereinstimmen, wobei es zu einer Verdrängung von Bilirubin aus seiner Albuminbindung und Verstärkung eines Kernikterus kommt. Bei Isozid^{R} korreliert der verstärkte PZV und die passager erhöhte SBK mit vorübergehender Mangelernährung und mit den Ergebnissen von Sato und Semba (83, 84). Eine Erklärung für den verstärkten Kernikterus steht hierbei noch aus.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß alle untersuchten Medikamente Bilirubin aus seiner Albuminbindung verdrängen können.

Ein Abfall der SBK und verstärkter Kernikterus bei jungen homozygoten Gunn Ratten nach Madribon^{R}-Injektion an deren Mütter konnte nachgewiesen werden.
Es hat sich gezeigt, daß nach Gabe von Bactrim^{R}, Aspirin^{R}, Aspisol^{R} und Isozid^{R} an die Rattenmütter es zu keinem Absinken des SB bei den jungen Ratten kam. Inwieweit hier eine Störung der Laktation durch die Medikamente oder die Applikation ein Anreichern in der Milch und Transfer in die jungen Ratten verhindert hat, oder ob die Mengen der Medikamente einfach zu klein waren, bleibt unklar.

Von den Rattenmüttern konnte keine ausreichende Menge an Milch bei Melkversuchen gewonnen werden, um die Medikamentenkonzentration darin zu bestimmen.

Nach Isozid^{R}-Gabe an die Rattenmütter wurde bei den jungen Ratten ein verstärkter Kernikterus gesehen, der vermutlich durch passagere Mangelernährung bedingt ist. Die Hirnschnittuntersuchungen nach Aspisol^{R} und Bactrim^{R} müssen wegen z. T. widersprüchlicher Ergebnisse und geringer Anzahl der Tiere zurückhaltend bewertet werden.

Die Gunn Ratte erscheint im nachhinein für solche Untersuchungen mit Medikamenten mit relativ kurzen Halbwertzeiten wegen ihrer Störanfälligkeit nur bedingt geeignet.

V. Zusammenfassung

Junge homozygote Gunn Ratten erhielten in Vorversuchen per os Madribon^{R} (tgl. 5 mg/kg an 11 Tagen, 10 mg/kg und 50 mg/kg), Bactrim^{R} (10 und 100 mg/kg), Isozid^{R} (100 und 400 mg/kg), Aspirin^{R} (250, 500 und 1000 mg/kg) und Aspisol^{R} (10, 80, 500, 1000 und 2000 mg/kg). Zuvor wurde die akute Toxizität bei jungen heterozygoten Ratten ermittelt. Die für die Vorversuche gewählten Höchstdosen lagen deutlich unterhalb der LD_{50}.

In Hauptversuchen wurden den laktierenden Rattenmüttern die Medikamente ein- oder zweimal in den nachstehenden Dosierungen appliziert. Madribon^{R} i.v. (100 oder 300 mg/kg), Bactrim^{R} i.v. (600 und 400 mg/kg), Isozid^{R} per os (500 oder 1000 mg/kg), Aspirin^{R} per os (2000 mg/kg) und Aspisol^{R} i.v. (800 oder 1000 mg/kg).
Das Serumbilirubin und der Hämatokrit wurden zuerst vor Medikamentengabe (Ausgangswert) und dann in verschiedenen Intervallen nach der Medikamenten-Applikation bestimmt.

Beim Hämatokrit ist keine Korrelation zur Serum-Bilirubinkonzentration nachweisbar. Der Hämatokrit sinkt mit der Anzahl der Blutentnahmen. Durch die Medikamente hervorgerufene Hämolysen ließen sich ausschließen.

Die Vorversuche ergaben, daß es bei allen untersuchten Medikamenten zu einem Absinken der Serum-Bilirubinkonzentration kam, was durch Verdrängung des albumingebundenen Bilirubins und Abwandern ins Gewebe bedingt ist. Bei Madribon^{R} und Aspisol^{R} war der Abfall des Serumbilirubins am stärksten. Bei allen Medikamenten war bei niedrigen Dosen der Serumbilirubin-Abfall geringer als bei hohen.

Ein Absinken der Serum-Bilirubinkonzentration bei den jungen homozygoten Gunn Ratten konnte in den Hauptversuchen nur mit Madribon^{R} gemessen werden. Hier kann man davon ausgehen, daß Madribon^{R} via Milch von den jungen Ratten aufgenommen wurde und albumingebundenes Bilirubin freigesetzt hat. Für Aspirin^{R}, Aspisol^{R}, Isozid^{R} und Bactrim^{R} konnte dies nicht nachgewiesen werden. Nach Bactrim^{R}-Gabe war kein Einfluß auf die Serum-Bilirubinkonzentration feststellbar. Die Applikation von Aspirin^{R}, Aspisol^{R} und Isozid^{R} bewirkte eine Irritation der Rattenmütter und dadurch vorübergehende Mangelernährung bei den jungen Ratten. Bei Gewichtsabnahme, Stagnation oder vermindertem Wachstum stieg das Serumbilirubin an und fiel erst, nachdem wieder normales Wachstum einsetzte, in den Normbereich. Die Beziehung zwischen passagerer Mangelernährung und Serumbilirubin-Anstieg konnte auch bei einer kleinen Gruppe von nicht behandelten Kontrolltieren registriert werden.

In den Vor- und Hauptversuchen hat sich gezeigt, daß auch Madribon^{R} die Gewichtsentwicklung gegenüber der Kontrolltiergruppe negativ beeinflußt, während Bactrim^{R} keinen Einfluß auf das Wachstum zu haben scheint. Nach direkter Gabe von Aspirin^{R} und Aspisol^{R} an junge Ratten wurde deren Gewichtsentwicklung negativ beeinflußt, während die Tiere nur nach hohen Isozid^{R}-Dosierungen weniger zunahmen.

Es wurden 77 junge Tiere aus den Vorversuchen, Hauptversuchen und aus der Kontrolltiergruppe zu histochemischen Hirnschnittuntersuchungen herangezogen. Von den Kontrolltieren hatten 66,6 % einen leichten Kernikterus (Grad 1 bis 1-2). Durch

Madribon^{R} wurde der Kernikterus in den Vor- und Hauptversuchen verstärkt bei abgesunkenem Serumbilirubin. Nach Isozid^{R}-Gabe an Rattenmütter wurde ein verstärkter Kernikterus bei vorübergehend angestiegenem Serumbilirubin gefunden. Dies korreliert mit der von Sato und Semba gefundenen erhöhten Bilirubinkonzentration im Kleinhirn nach vorübergehendem Fasten. Die Versuche mit Aspisol^{R} haben gezeigt, daß nicht in jedem Fall eine Korrelation zwischen SB-Abfall oder Anstieg bei Mangelernährung und Purkinjezellverlust besteht. Deswegen und wegen der teilweise geringen Anzahl von Tieren in den einzelnen Gruppen ist die Wertung dieser Ergebnisse und der aus den Versuchen mit Bactrim^{R} schwierig.

Es bleibt auch offen, inwieweit die am Modell der Gunn Ratte gefundenen Ergebnisse direkt auf den Menschen übertragbar sind. War die Wertung schon in den Tierversuchen teilweise problematisch, so muß mit noch größeren Unsicherheiten beim Erarbeiten von Daten an stillenden Müttern und jungen Säuglingen gerechnet werden. Immerhin scheint eine Warnung ratsam vor der Einnahme von Langzeit-Sulfonamiden wie Madribon^{R} durch die Mutter während des Stillens, solange bei dem Kind ein Ikterus neonatorum besteht.

VI. Literaturverzeichnis

1. Anderson, P.O.
Drugs and breast feeding.
Semin. Perinatol. 3: 271-278, 1979

2. Ballowitz, L.
Hyperbilirubinämie bei Neu- und Frühgeborenen.
Pädiat. Prax. 13: 213-230, 1973/74

3. Ballowitz, L., Hanefeld, F.
Effect of drugs on infant gunn rats under phototherapy.
Birth Defects 12: 61-80, 1976

4. Ballowitz, L., Schmid, J., Siegert, M., Steffen, B.
Effect of stabilizers in preparations of human serum albumin on the serum bilirubin in gunn rats.
Acta Paediatr. Scan. 67: 505-511, 1978

5. Ballowitz, L.
Bilirubin encephalopathy: changing concepts.
Brain Dev. 2: 219-227, 1980

6. Ballowitz, L., Schmid , H.J., Wilhelm, K.
Medikamente bei stillenden Müttern eines Säuglings mit Hyperbilirubinämie. Pädiat. Prax. 24: 19-20, 1980/81

7. Barka, T., Anderson, P.J.
Histochemistry
Hoeber Medical Devision, New York, 1st Ed., 1965

8. Bayer AG
Basisinformation Aspirin®
1980

9. Bayer AG
Basisinformation Aspisol®

10. Behrens, B. und Kärber, G.
Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am zweckmäßigsten anzuordnen?
Arch., Exper. Path. Pharmak. 177: 379-388, 1935

11. Berlin, C.M.
Drugs and Chemicals in Human Milk
In: Counseling the Mother on Brest-Feeding
Ross Laboratories: 51-60, 1980

12. Berlin, C.M. Jr., Lee, C.
Isoniazid and acetylisoniazid disposition in human milk, salvia and plasma
Fed. Proc.: 38/31 (No. 1044), 1979

13. Blaeker, F.
Antimikrobielle Therapie mit Cotrimoxazol
Monatssch. Kinderheilk. 129,6: 370-71, 1981

14. Blanc, W.A., Johnson, L.
Studies on kernicterus
J. Neuropathol. Exp. Neurol. 18: 165-187, 1959

15. Blondheim, S.H.
The relation between the albumin concentration of serum and its dye-binding capacity.
J. Lab. Clin. Med. 45: 740-747, 1955

16. Bratlid, D.
Reserve albumin binding capacity, salicylate saturation index and red cell binding in neonatal jaundice.
Arch. Dis. Child. 48: 393-397, 1973

17. Bratlid, D.
Pharmacologic Aspects of Neonatal Hyperbilirubinemia
Birth Defects 12, No. 2: 184-191, 1976

18. Brodersen, R.
Competitive binding of bilirubin and drugs to human serum albumin studied by enzymatic oxidation.
J. Clin. Invest. 54: 1353-1364, 1974

19. Brodersen, R.
Competitive binding of bilirubin and other substances to plasma albumin: Equilibrium studies in vitro.
Birth Defects 12, No. 2: 179-183, 1976

20. Brodersen, R.
The mechanism of drug-induced displacement of bilirubin from albumin.
In: Stern, L., Ed., Intensive care in the newborn, Masson Publ., New York, 177-184, 1976

21. Brodersen, R.
Prevention of kernicterus, based on recent progress in bilirubin chemistry.
Acta Paediatr. Scand 66: 625-634, 1977

22. Brodersen, r.
Free bilirubin in blood plasma of the newborn: effects of albumin, fatty acids, pH, displacing drugs and phototherapy.
In: Stern, L., Oh, W., Friis-Hansen, B., Ed., Intensive care of the newborn II. New York: Masson Publ.: 331-345, 1978

23. Brodersen, R.
Bilirubin transport in the newborn infant, reviewed with relation to kernicterus.
J. Pediatr. 96: 349-356, 1980

24. Buddecke, E.
Grundriss der Biochemie
Walter De Gruyter, Berlin, New York, 1977

25. Cashore, W.J., Oh, W.
Unbound Bilirubin and Kernicterus in Low-Birth-Weight Infants
Pediatrics 69: 481-485, 1982

26. Davis, D.R., Yeary, R.A.
Effect of sulfadimethoxine on tissue distribution of (^{14}C) Bilirubin in the newborn and adult hyperbilirubinemic Gunn rat.
Pediatr. Res. 9: 846-850, 1975

27. Diamond, I., Schmid, R.
Experimental bilirubin encephalopathie. The mode of entry of bilirubin-^{14}C into the central nervous system.
J. clin. Invest. 45: 678-689, 1966

28. Diamond, I.
Studies on the neurotoxicity of bilirubin and the distribution of its derivates.
Birth Defects 6: 124-127, 1970

29. Erickson, S.H., Oppenheim, G.L.
Aspirin in Brest Milk.
The Journal of Fam. Prac. 8,1: 189-190, 1979

30. Fischer, O.
Plasma- und Gewebskonzentrationen bei Kälbern, Schafen und Schweinen sowie Milchkonzentrationen bei Kühen nach subkutaner und oraler Applikation des Sulfonamids Dimerasulfaselectavet, München
Tierärztliche Umschau 32: 23-30, 1977

31. Forth, W., Henschler, D., Rummel, W.
Pharmakologie und Toxikologie
B.I.-Wisschenschaftsverlag Mannheim/Wien/Zürich, 1977

32. Gartner, L.M., Lee, S.K.
Bilirubin Binding, Free Fatty Acids and a New Concept for the Pathogenesis of Kernicterus
Birth Defects 12,2: 266-274, 1976

33. Gartner, L.M., Snyder, R.N., Chabon, R.S., Bernstein, J.
Kernicterus: High incidence in premature infants with low serum bilirubin concentrations.
Pediatrics 45: 906-917, 1970

34. Gladtke, E.
Aktuelle Probleme der Arzneitherapie im Kindesalter.
Med. Welt 32/7: 42/219-51/224, 1981

35. Gunn, C.H.
Hereditary acholuric jaundice in a new mutant strain of rats
J. Hered. 29: 137-139, 1938

36. Hanefeld, F., Natzschka, J.
Histochemical Studies in Infant Gunn Rats with Kernicterus.
Neuropädiatrie 4: 428-438, 1971

37. Hanfeld, F.
Untersuchungen über den Einfluß der Hyperbilirubinämie auf die Kleinhirnentwicklung der Gunn Ratte.
Monatsschrift für Kinderheilkunde 131: 206-209, 1983

38. Harris, R.C., Lucey, J.F., Mac Lean, J.R.
Kernicterus in Premature Infants associated with low Concentrations of Bilirubin in the Plasma.
Pediatrics 21/6: 875-883, 1958

39. Herken, H., Gross, R.
Praktisch wichtige Grundbegriffe der Pharmakokinetik.
Internist 23/11: 593-600, 1982

40. Hoffmann-La-Roche AG
Standardinformation für Krankenhausapotheker Bactrim^{R}
Roche, 3/1983

41. Hsia, D.Y.Y., Allen, F.H. Jr., Gellis, S.S., Diamond, L.K.
Erytroblastosis fetalis. VIII. Studies of serum bilirubin in relation to kernicterus
New Engl. J. Med. 247: 668-671, 1952

42. JHA, H.N., Banerjee, N.C.
A note on distribution of sulphadimethoxine in blood, milk an urine of goats.
Indian Journal of Animal Scienes 47/8: 496-497, 1977

43. Jacobsen, J.,Brodersen, R.
The Effects of pH on Albumin-Bilirubin Binding Affinity
Birth Defects 12/2: 175-179, 1976

44. Johnson, L., Sarmiento, F., Blanc, W.A., Day, R.
Kernicterus in rats with inherited deficiency of glucuronyl transferase.
Amer. J. Dis. Child. 97: 591-608, 1959

45. Johnson, L., Garcia, M.L., Figueroa, E., Sarmiento, F.
Kernicterus in rats lacking glucuronyl transferase. II. Factore which alter bilirubin concentration and frequency of Kernicterus.
Am. J. Dis. Child. 101: 322-349, 1961

46. Kahn, D., Krienke, E.G., v. Mühlendahl, K.E.
Vergiftungen im Kindesalter, 14. Salizylatvergiftung
Pädiatr. Praxis 26: 281-285, 1982

47. Kim, M.H., Yoon, J.J., Sher, J., Brown, A.K.
Lack of Predictive Indices in Kernicterus: A Comparison of Clinical and Pathologic Factors in Infants with or without Kernicterus.
Pediatrics 66: 852-858, 1980

48. Knowles, J.A.
Excretion of Drugs in Milk
M & R. timesaver, pediatric currents 21/4: 31-32, 1972

49. v. Kobyletzki, D.
Zur Pharmakokinetik während der Peripartalzeit und Stillzeit
Pädiatrie und Pädologie 4: 363-381, 1968

50. Korn, J.
Korrelation zwischen Serum-Bilirubingehalt, Sephadex-Gel-Filtrationstest und Kernikterus.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1977

51. Kuschinsky, G., Lüllmann, H., Peters, T.
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1978

52. Laniado, M.
Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß einiger neuerer antibiotischer Präparate auf das Serum-Bilirubin und den Kernikterus der jungen Gunn Ratte.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1981

53. Levine, R.L.
Bilirubin: Worked Out Years Ago?
Pediatrics 64: 380-395, 1979

54. Levine, R.L., Fredericks, W.R., Rapoport, S.J.
Entry of bilirubin into the brain due to opening of the blood-brain-barrier.
Pediatrics 69: 255-259, 1982

55. Levy, G.
Clinical Pharmacokinetics of Aspirin
Pediatrics 62 (Suppl.): 867-872, 1978

56. Lien, E.J.
The Excretion of Drugs in Milk: A Survey.
Jour. of Clin. Pharm. 4: 133-144, 1979

57. Lucey, J.F.
Bilirubin and Brain Damage - A Real Mess.
Pediatrics 69: 381-382, 1982

58. Mollison, P.L., Cutbush, M.
In: Gairdner, D., Ed., Recent advances in pediatrics, Blakiston, New York, 1954

59. Mortimer, E.A. Jr.
Drug Toxicity From Breast Milk?
Pediatrics 60: 780-781, 1977

60. Naranjo, G., Lampe, K.F.
Childhood and Adolescent Poisoning by Isoniazid.
Paediatrician 6: 271-277, 1977

61. O' Brien, T.E.
Excretion of drugs in human milk
Amer. J. Hosp. Pharm. 31: 844-854, 1974

62. Odell, G.B.
In vitro studies of the effect of sulfonamides on bilirubin.
Am. J. Dis. Child. 96: 535-536, 1958

63. Odell, G.B.
Studies on Kernicterus: I. The Protein Binding of Bilirubin.
J. Clin. Invest. 38: 823-833, 1959

64. Odell, G.B.
The distribution of bilirubin between albumin and mitochondria.
J. Pediat. 68: 164, 1966

65. Odell, G.B., Cohnen, S.N., Kelly, P.C.
Studies in kernicterus II. The determination of saturation of serum albumin with bilirubin.
J. Pediatr. 74: 214-230, 1969

66. Odell, G.B., Storey, G.N.B., Rosenberg, L.A.
Studies in Kernicterus III. The saturation of the serum proteins with bilirubin during neonatal life and its relationship to brain damage at five years.
J. Pediat. 76: 12-21, 1970

67. Odell, G.B.
The distribution and toxicity of bilirubin
Pediatrics 46: 16-24, 1970

68. Odell, G.B., Cukier, J.O., Seungdamrong, S., Odell, J.L.
The Displacement of Bilirubin from Albumin.
Birth Defects 12/2: 192-204, 1976

69. Oski, F.A., Naiman, J.L.
Red cell binding of bilirubin.
Jour. of Pediatr. 63: 1034, 1963

70. Ostrea, E.M., Bassel, M., Fleury, C.A., Bartos, A., Jesrum, C.A.
Influence of free fatty acids and glucose infusion on serum bilirubin and bilirubin binding to albumin: Clinical implications.
The Jour. of Pediatr. 102: 426-432, 1983

71. Pearlman, M.A., Gartner, L.M., Lee, K., Morecki, R., Horoupian, D.S.
Absence of kernicterus in low-birth-weight infants from 1971 through 1976: comparison with findings in 1966 and 1967.
Pediatrics 62: 460-464, 1978

72. Pearlman, M.A., Gartner, L.M., Lee, K., Eidelman, A.J., Morecki, R., Horoupian, D.S.
The Association of Kernicterus with Bacterial Infections in the Newborn.
Pediatrics 65: 26-29, 1980

73. Pütter, J., Satravaha, P., Stockhausen, H.
Quantitative Bestimmung der Hauptmetaboliten der Acetylsalicylsäure. 3. Mitteilung: Vergleichende Bestimmung im Blut und Milch von stillenden Frauen.
Z. Geburtsh. Perinat. 1978: 135-138, 1974

74. Pütter, J.
Übersicht über die Pharmakokinetik der Acetylsalicylsäure.
Med. Welt 27: 1362-1365, 1976

75. Reinhardt, D.
Arzneimittel während der Stillzeit.
Sozialpädiatrie 12: 469-473, 1980

76. Reinhardt, D., Richter, O.
Mechanismus des Arzneimittelübergangs in die Muttermilch.
Monatsschr. Kinderheilk. 129: 341-346, 1981

77. Reinhardt, D., Richter, O.
Arzneimittelwirkung auf das Neugeborene, Kleinkind und Schulkind.
Fortschr. Med. 99: 1551-1554, 1981

78. Reinhardt, D., Richter, O., Brandenburg, G.
Pharmakokinetik des Arzneimittelübergangs von stillenden Müttern auf ihre Säuglinge am Beispiel des Theophyllins.
Monatsschr. Kinderheilk. 131: 66-70, 1983

79. Richter, O., Reinhardt, D., Stutzinger, W.
Problematik der Entwicklung von Dosierungsschemata für medikamentöse Behandlung im Kindesalter.
Monatsschr. Kinderheilk. 131: 63-65, 1983

80. Ritter, D.A., Kenny, J.D., Norton, H.J., Rudolph, A.J.
A Prospective Study of Free Bilirubin and Other Risk Factors in the Development of Kernicterus in Premature Infants.
Pediatrics 69: 260-266, 1982

81. Roots, J.
Genetisches Ursachen für die Variabilität der Wirkung und Nebenwirkungen von Arzneimitteln.
Internist 23: 601-609, 1982

82. Saarstickstoff - Fatol GmbH
Standardinformation für Krankenhausapotheker Isozid®
3/1983

83. Sato, H., Semba, R.
Effect of Milk on plasma unbound-bilirubin concentration in homozygous Gunn rat sucklings.
Experientia, 33: 59-61, 1977

84. Sato, H., Semba, R.
Relationsship between plasma unbound-bilirubin concentration and cellular bilirubin content in homozygous Gunn rat sucklings.
Experientia, 34: 221-222, 1978

85. Schenker, S., McCandless, Zollman, P.E.
Studies on cellular Toxicity of Unconjugated Bilirubin in Kernicteric Brain.
Jour. of Clin. Invest. 45: 1213-1220, 1966

86. Schiff, D., Chan, G., Stern, L.
Fixed drug combinations and the displacement of bilirubin from albumin.
Pediatrics 48: 139, 1971

87. Schmidt, H.J.
Der Einfluß von antibiotischen Präparaten und deren Lösungsvermittlern auf das Serum-Bilirubin der jungen Gunn Ratte mit und ohne Phototherapie.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1976

88. Schmid, R., Axelrod, J., Hammaker, L., Swarm, R.L.
Congenital jaundice in rats, due to a defect in glucuronide formation.
J. Clin. Invest. 37: 1123-1130, 1958

89. Schmorl, G.
Zur Kenntnis des Icterus neonatorum.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 6: 109, 1903

90. Schutta, H.S., Johnson, L.
Bilirubin encephalopathy in the gunn rat: a fine structure study of the cerebellar cortex.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 26: 377-396, 1967

91. Schutta, H.S., Johnson, L.
Clinical signs and morphologic abnormalities in gunn rats treated with sulfadimethoxine.
J. Pediatr. 75: 1070-1079, 1969

92. Silberberg, D.H., Johnson, L., Ritter, L.
Factors influencing toxicity of bilirubin on cerebellum tissue culture.
J. Pediatr. 77: 386-396, 1970

93. Simon, C., Stille, W.
Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis.
Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, 1979

94. Silverman, W.A., Anderson, D.H., Blanc, W.A., Crozier, D.N.
A difference in mortality and incidence of kernicterus amon premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimes.
Pediatrics 18: 614-624, 1956

95. Sisodia, C.S.
Persistence of sulphonamides in bovine milk afer oral or intravenous administration.
Indian Vet. J. 44: 447-456, 1967

96. Slama, B.
Studien über den Kernikterus junger Gunn Ratten: Einwirkungen verschiedener Medikamente während der Phototherapie.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1976

97. Springer, C., Eyal, F., Michel, J.
Pharmocology of Trimethoprim-Sulfamethoxazole in Newborn Infants.
Jour. of Peciatr. 100: 647-650, 1982

98. Stern, L.
Drug interactions - part II. Drugs, the newborn infant and the binding of bilirubin to albumin.
Pediatrics 49: 916-918, 1972

99. Stern, L. Doray, B., Chan, G., Schiff, D.
Bilirubin metabolism and the induction of kernicterus.
Birth Defects 12/2: 255-263, 1976

100. Stern, L.
Bilirubinmetabolismus und Kernikterus.
Annales Nestle 42/3: 31-38, 1984

101. Vorherr, H.
Drug Excretion in Breast Milk
Postgraduate Medicine 56: 97-104, 1974

102. Vorherr, H.
Ausscheidung von Arzneimitteln in die Muttermilch
In. Physiologie und Pathologie der Lactation.
Klinik der Frauenh. u. Gebursh. Bd. III: 250/11-250/21, 1977

103. Vorherr, H.
Die Folgewirkungen von Arzneimitteln und Schadstoffen in der Muttermilch sind im allgemeinen gering.
Pais 12: 1-8, 1984

104. Wiese, G.
Die Hyperbilirubinämie des Neugeborenen.
Monatsschr. f. Kinderheilk. 131: 193-203, 1983

105. Wilson, J.T.
Drugs in Breast Milk
MTP Press Limited, 1-110, 1981

106. Windorfer jun., A., Mihailowa, K.
Der Einfluß verschiedener Medikamente und pH-Werte auf die Albumin-Bilirubin-Bindung in vitro
Z. Kinderheilk. 114: 83-92, 1973

107. Windorfer jun., A., Gasteiger, U.
Stillen und Medikamente.
Klin. Pädiatr. 190: 219-225, 1978

108. Yeary, R.A.
Comparative toxicity studies on glucuronid-forming compounds in icteric and nonicteric newborn Gunn rats.
J. Pediatr. 77: 139-142, 1970

109. Yeary, R.A., Davis, D.R.
Protein binding of bilirubin: comparison of in vitro an in vivo measurements of bilirubin displacement by drugs.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 28: 269-283, 1974

110. Yurchak, A.M., Juska, W.J.
Theophylline Secretion into Breast Milk
Pediatrics 57: 518-520, 1976

VII. Tabellenanhang

In den folgenden Tabellen sind die in den dazugehörigen Abbildungen graphisch dargestellten Daten dokumentiert. Die benutzten Abkürzungen bedeuten:

LT = Lebenstage, entspricht dem Alter der Tiere in Tagen.
VT = Versuchstage, entspricht der Dauer des Versuches in Tagen.
h = Stunden, entspricht der Dauer des Versuches in Stunden.
0 = Versuchsbeginn oder Ausgangswert, entspricht Bilirubin- und Gewichtswerten vor Medikamentengabe.

Die angegebenen Werte für Bilirubin (mg/dl) und Gewicht (g) sind Mittelwerte, "s" bedeutet Standardabweichung. Für die Bilirubinwerte wurde die prozentuale Veränderung (%) vom Ausgangswert berechnet, wobei der Ausgangswert 100 % ist.

Tab. 3: zu Abb. 2

Zeit	(LT)	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Bili-	(mg/dl) ▲	8,01	8,17	8,54	8,16	8,25	8,71	8,47	8,87	8,84
rubin	(s +/-)	1,54	1,59	1,74	1,49	1,54	1,37	0,96	1,15	1,18
	(%)	100	102	107	102	103	109	106	111	111

Tab. 4: zu Abb. 3

Zeit	(LT)	5	6	7	8	9	10
Bili-	(mg/dl) ●	8,81	8,61	9,64	9,83	9,85	10,14
rubin	(s +/-)	2,15	2,42	2,02	1,75	1,80	1,80
	(%)	100	98	109	112	112	115

Tab. 5: zu Abb. 4

Zeit	(VT)	0	1	2	3	4	5	6	7	11
Bili-	(mg/dl) ●	8,80	7,68	7,08	5,80	4,60	4,96	4,42	3,42	3,92
rubin	(s +/-)	1,42	1,21	1,10	0,72	0,39	0,42	0,38	0,43	0,53
	(%)	100	87	80	66	52	56	50	39	45

Tab. 6: zu Abb. 5

Zeit	(h)	0	24	48	72	96
Bili-	(mg/dl) □	10,8	8,40	8,30	4,46	5,70
rubin	(s +/-)	1,23	1,16	0,89	0,82	0,70
	(%)	100	78	77	41	53

Tab. 7: zu Abb. 6

Zeit	(h)	0	3	6	24	48	72	96
	(mg/dl) ○	10,1	7,73	7,80	5,67	-	-	5,53
Bili-	(s +/-)	0,44	0,32	0,40	0,65	-	-	0,42
rubin	(%)	100	76	77	56	-	-	55
	(mg/dl) △	10,9	-	-	1,38	2,67	3,12	4,88
	(s +/-)	1,35	-	-	0,74	0.75	0,88	0,61
	(%)	100	-	-	13	24	29	45

Tab. 8: zu Abb. 7

Zeit	(h)	0	30'	1	2	3	24	48	72
	(mg/dl) ○	8,43	6,50	5,68	5,65	5,18	4,60	4,55	5,38
	(s +/-)	1,90	1,74	1,51	1,69	1,56	0,76	1,00	1,03
Bili-	(%)	100	77	67	67	61	55	54	64
rubin	(mg/dl) △	8,17	4,87	3,90	3,43	2,43	1,57	2,90	4,30
	(s +/-)	0,78	1,04	0,36	0,40	0,15	0,15	0,82	0,32
	(%)	100	60	48	42	30	19	35	53

Tab. 9: zu Abb. 8

Zeit	(h)	0	30'	1	2	3	24	48
	(mg/dl) ○	7,47	6,65	6,36	6,88	6,93	8,66	8,44
	(s +/-)	0,93	0,65	0,68	0,85	1,07	1,33	0,61
Bili-	(%)	100	89	85	92	93	116	113
rubin	(mg/dl) △	7,80	5,77	5,39	5,76	5,61	7,67	7,73
	(s +/-)	1,03	0,87	0,97	1,13	1,34	1,54	1,09
	(%)	100	74	69	74	72	98	99

Tab. 10: zu Abb. 9

Zeit	(h)		0	30'	3	24
	(mg/dl)	○	7,40	6,60	7,33	9,22
	(s +/-)		0,95	1,11	0,96	1,01
	(%)		100	89	99	125
Bili-rubin	(mg/dl)	△	8,28	7,14	8,40	7,88
	(s +/-)		0,57	0,64	0,71	0,50
	(%)		100	86	101	95
	(mg/dl)	□	9,00	7,10	6,00	10,3
	(s +/-)		0,91	0,54	1,40	1,00
	(%)		100	79	67	114

Tab. 11: zu Abb. 10

Zeit	(h)		0	30'	3	24	48
	(mg/dl)	□	6,30	4,77	4,73	6,87	-
	(s +/-)		0,65	0,32	0,90	0,92	-
	(%)		100	76	75	109	-
Bili-rubin	(mg/dl)	○	7,62	5,78	5,70	6,22	-
	(s +/-)		0,88	1,20	1,45	1.06	-
	(%)		100	76	75	81	-
	(mg/dl)	▽	8,57	6,13	5,63	5,67	7,53
	(s +/-)		1,07	0,85	0,68	0,90	0,80
	(%)		100	72	66	66	88

Tab. 12: zu Abb. 11

Zeit (VT)		0	30'	1	2	3	24	48
	(mg/dl) ○	6,99	6,12	5,93	6,70	6,38	9,60	-
	(s +/-)	1,06	0,88	0,62	0,71	0,61	1,05	-
	(%)	100	88	85	96	91	130	-
	(mg/dl) ▽	7,16	5,78	5,21	5,88	5,78	7,50	-
	(s +/-)	0,75	0,72	0,84	0,65	0,83	1,05	-
	(%)	100	85	73	82	81	105	-
	(mg/dl) □	6,82	3,75	-	-	2,77	3,06	5,70
Bili-	(s +/-)	1,04	1,09	-	-	0,86	0,74	1,40
rubin	(%)	100	55	-	-	41	45	83
	(mg/dl) ●	7,30	3,98	-	-	1,95	1,15	-
	(s +/-)	0,97	0,53	-	-	0,53	0,15	-
	(%)	100	55	-	-	27	16	-
	(mg/dl) ▲	7,75	3,65	-	-	0,43	-	-
	(s +/-)	0,47	0,37	-	-	0,39	-	-
	(%)	100	47	-	-	6	-	-

Tab. 13: zu Abb. 12

Zeit (VT)		0	1	2	3	4	5	6	7	8
	(mg/dl) ●	7,85	4,03	3,03	3,10	3,56	4,98	4,75	3,48	3,03
Bili-	(s +/-)	0,87	0,26	0,46	0,32	0,17	0,46	0,81	0,90	0,22
rubin	(%)	100	51	38	40	45	63	61	44	38
	(mg/dl) ▲	7,40	4,42	2,84	3,44	4,30	5,32	5,44	6,76	5,18
	(s +/-)	1,68	1,05	0,56	0,94	0,83	0,76	0,52	0,57	0,96
	(%)	100	60	38	46	58	71	73	91	70

Zeit (VT)		9	10	11	12	13	14	15
	(mg/dl) ●	3,95	5,15	6,58	6,78	-	8,43	-
	(s +/-)	0,52	0,24	0,25	0,35	-	0,83	-
Bili-	(%)	50	66	84	86	-	107	-
rubin	(mg/dl) ▲	4,20	3,96	5,28	-	-	6,94	7,22
	(s +/-)	0,74	0,68	0,71	-	-	0,47	0,28
	(%)	57	53	71	-	-	94	97

Tab. 14: zu Abb. 13

Zeit	(VT)		0	1	2	3	4	5	6	7	8
	(mg/dl)	●	7,77	2,99	1,91	2,56	3,83	4,24	4,58	5,88	6,40
	(s +/-)		1,25	0,76	0,52	0,62	0,84	0,60	0,92	-	-
	(%)		100	38	25	33	49	55	59	76	82
Bili-											
rubin	(mg/dl)	▲	6,97	4,10	1,73	2,50	3,10	4,77	4,60	2,50	2,97
	(s +/-)		0,40	1,22	0,35	0,26	0,26	0,42	0,56	1,30	1,07
	(%)		100	59	25	36	44	68	66	36	43

Zeit	(VT)		9	10	11	12	13	14	15
	(mg/dl)	●	7,22	-	-	-	-	-	-
	(s +/-)		-	-	-	-	-	-	-
	(%)		93	-	-	-	-	-	-
Bili-									
rubin	(mg/dl)	▲	4,10	5,20	-	-	6,53	-	7,73
	(s +/-)		0,82	1,35	-	-	1,50	-	2,40
	(%)		59	75	-	-	94	-	111

Tab. 15: zu Abb. 14

Zeit	(VT)		0	1	2	3	4	5	6	7	8
	(mg/dl)	●	6,62	4,17	2,47	4,25	3,88	4,42	5,62	7,02	8,23
	(s +/-)		1,19	0,64	0,43	0,67	0,50	0,16	0,44	1,00	0,41
	(%)		100	63	37	64	59	67	85	106	124
Bili-											
rubin	(mg/dl)	▲	7,56	8,70	9,70	9,90	9,24	8,12	8,80	6,42	2,88
	(s +/-)		1,15	0,70	0,66	1,27	0,67	0,16	0,35	0,87	0,79
	(%)		100	115	128	131	122	107	116	85	38

Zeit	(VT)		9	10	11	12	13	14	17	19
	(mg/dl)	●	9,22	8,58	9,62	10,25	10,15	8,72	8,93	9,47
	(s +/-)		0,87	0,42	0,33	0,57	0,61	1,50	1,23	1,71
	(%)		139	130	145	155	153	132	135	143
Bili-										
rubin	(mg/dl)	▲	3,02	3,76	4,12	4,82	5,48	5,82	6,76	8,44
	(s +/-)		0,56	0,29	0,61	0,80	1,65	1,38	1,35	2,31
	(%)		40	50	54	64	72	77	89	112

Tab. 16: zu Abb. 15

Zeit	(h)		0	3	6	10	12	18	24	48	120
	(mg/dl)	o	7,18	7,35	8,02	-	-	-	5,20	2,70	2,40
	(s +/-)		1,15	1,29	1,32	-	-	-	0,94	0,80	0,36
	(%)		100	102	112	-	-	-	72	37	33
Bili-	(mg/dl)	Δ	7,64	7,48	8,12	8,23	7,77	-	5,67	-	-
rubin	(s +/-)		1,64	1,69	1,65	1,19	1,29	-	1,17	-	-
	(%)		100	98	106	107	102	-	74	-	-
	(mg/dl)	□	7,57	-	-	-	6,08	4,75	3,9	2,63	3,80
	(s +/-)		1,10	-	-	-	1,33	1,47	1,5	0,88	0,80
	(%)		100	-	-	-	80	63	52	34	50

Tab. 17: zu Abb. 16

Zeit	(VT/h)		0	1	27h	2	3	4	5	6
	(mg/dl)	o	8,16	8,10	8.08	9,62	8,48	8,04	8,50	-
	(s +/-)		0,63	0,93	1,03	1,13	0,82	0,42	0,60	-
Bili-	(%)		100	99	99	118	104	99	104	-
rubin	(mg/dl)	Δ	5,06	6,27	6,32	6,61	6,77	-	-	8,35
	(s +/-)		0,50	0,74	0,73	0,92	0,60	-	-	0,94
	(%)		100	123	125	131	134	-	-	165

Tab. 18: zu Abb. 17 und 47

Zeit	(VT)		0	1	2	3	4	5	6	8
	(mg/dl)	o	8,86	9,19	9,59	9,33	9,56	9,51	9,06	8,21
Bili-	(s +/-)		1,20	1,38	0,95	1,23	0,60	0,83	0,36	0,44
rubin	(%)		100	104	108	105	108	107	102	93

Tab. 19: zu Abb. 18 und 48

Zeit	(VT/h)		0	3h	6h	1	2	51h	54h	3
Bili-rubin	(mg/dl)	△	6,53	6,28	7,13	8.07	11,18	11,21	11,60	10,99
	(s +/-)		0,84	1,42	0,96	0,79	0,48	0,55	0,46	0,85
	(%)		100	96	109	124	171	172	178	168

Zeit	(VT)		6	8
Bili-rubin	(mg/dl)	△	7,82	7,72
	(s +/-)		0,87	1,09
	(%)		120	118

Tab. 20: zu Abb. 19 und 49

Zeit	(VT/h)		0	3h	6h	1	2	51h	54h	3
Bili-rubin	(mg/dl)	★	7,35	7,95	9,50	9,77	11,33	11,28	11,68	11,33
	(s +/-)		1,02	1,30	1,00	0,67	0,40	0,39	0,45	0,57
	(%)		100	108	129	133	154	153	159	154

Zeit	(VT)		6	8
Bili-rubin	(mg/dl)	★	8,65	8,53
	(s +/-)		0,31	0,26
	(%)		118	116

Tab. 21: zu Abb. 20 und 50

Zeit	(VT/h)		0	3h	6h	1	2	51h	54h	3
Bili-rubin	(mg/dl)	□	8,40	8,68	8,90	10,68	8,78	8,90	10,30	10,35
	(s +/-)		1,00	0,57	0,74	0,38	0,73	0,73	0,61	0,19
	(%)		100	103	106	127	105	106	123	123

Zeit	(VT)		6	8
Bili-rubin	(mg/dl)	□	9,70	9,23
	(s +/-)		0,44	0,38
	(%)		115	110

Tab. 22: zu Abb. 21

Zeit (h)		0	6	10	24
Bili-rubin	(mg/dl) ○	8,69	9,73	9,69	8,65
	(s +/-)	1,09	1,00	0,99	0,61
	(%)	100	112	112	100

Tab. 23: zu Abb. 22 und 51

Zeit (h)		0	2	3	10	24	48
Bili-rubin	(mg/dl) ○	6,77	6,86	7,57	-	10,21	10,49
	(s +/-)	1,12	1,33	1,29	-	1,02	1,39
	(%)	100	101	111	-	150	154
	(mg/dl) △	8,26	-	-	9,98	11,73	10,77
	(s +/-)	1,17	-	-	1,39	0,68	0,48
	(%)	100	-	-	120	141	130

Tab. 24: zu Abb. 23 und 42

Zeit (VT)		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Bili-rubin	(mg/dl) ○	7,90	8,20	7,30	7,81	7,40	8,01	8,31	9,31	8,93
	(s +/-)	0,89	0,76	0,53	0,69	0,59	0,51	0,71	0,71	0,75
	(%)	100	104	92	99	94	101	105	118	113

Tab. 25: zu Abb. 24 und 43

Zeit (VT)		0	1	2	3	4	5	7	8
Bili-rubin	(mg/dl) △	8,40	11,06	7,40	7,06	7,11	6,55	7,70	9,19
	(s +/-)	1,60	1,30	1,51	1,16	1,12	0,78	1,17	1,09
	(%)	100	132	88	84	85	78	92	109

Tab. 26: zu Abb. 25 und 45

Zeit (VT)		0	1	2	3	4	5	6	8
Bili-rubin	(mg/dl) □	7,17	11,20	9,99	11,14	8,41	8,46	9,07	7,67
	(s +/-)	0,52	1,07	0,73	0,91	0,91	0,77	0,63	0,63
	(%)	100	156	139	155	117	118	126	107

Tab. 27: zu Abb. 26 und 44

Zeit	(VT/h)		0	3h	1	2	51h	3	4	7
Bili-rubin	(mg/dl)	★	6,54	6,73	11,51	10,66	9,97	11,80	7,49	7,79
	(s +/-)		0,58	0,64	0,97	0,61	0,46	0,54	0,78	0,84
	(%)		100	103	176	163	152	180	115	119

Tab. 28: zu Abb. 27 und 46

Zeit	(h)		0	3	6	24
Bili-rubin	(mg/dl)	o	7,41	7,28	8,18	13,84
	(s +/-)		1,09	1,12	1,11	0,73
	(%)		100	98	110	187

Tab. 29: zu Abb. 28

Zeit	(h)		0	30h	3	24
	(mg/dl)	o	6,60	6,00	7,00	7,80
	(s +/-)		0,54	0,35	0,50	0,56
Bili-	(%)		100	91	106	118
rubin	(mg/dl)	▵	8,00	7,28	8,30	9,50
	(s +/-)		0,79	0,41	0,62	0,44
	(%)		100	91	104	119

Tab. 30: zu Abb. 29 und 41

Zeit	(h)		0	6	24	48
Bili-rubin	(mg/dl)	o	8,17	9,65	13,55	15,25
	(s +/-)		0,76	0,13	0,81	0,73
	(%)		100	118	166	187

Tab. 31: zu Abb. 30

Zeit	(LT)		4	5	6	7	8	9	10
Gewicht	(g)	▲	8,18	9,16	10,35	11,55	12,53	14,06	15,61
	(s +/-)		1,09	1,17	1,55	1,72	2,08	2,50	2,98

Zeit	(LT)		11	12	13	14	15
Gewicht	(g)	▲	16,60	17,81	19,64	21,92	23,51
	(s +/-)		3,10	3,11	4,07	3,29	3,07

Tab. 32: zu Abb. 31

Zeit	(LT)		4	5	6	7	8	9	10
Gewicht	(g)	●	8,43	9,35	10,42	12,46	14,33	15,59	17,24
	(s +/-)		1,15	1,54	1,78	1,92	2,99	3,67	3,05

Tab. 33: zu Abb. 32

Zeit	(LT)		4	5	6	7	8	9
Gewicht	(g)	○	8,09	8,82	9,53	10,15	10,60	-
	(s +/-)		1,21	1,05	1,35	1,26	1,50	-
	(g)	△	8,06	8,59	8,77	9,24	-	-
	(s +/-)		0,79	0,97	-	-	-	-
	(g)	□	8,36	8,78	9,06	9,66	11,16	-
	(s +/-)		1,07	1,25	1,52	-	-	-
	(g)	▼	6.63	7,78	8,36	9,58	10,66	11,76
	(s +/-)		0,77	0,95	1,19	1,34	1,80	2,28

Tab. 34: zu Abb. 33

Zeit	(LT)		4	5	6
	(g)	○	8,06	8,72	9,80
	(s +/-)		0,88	1,00	1,30
Gewicht					
	(g)	△	8,09	8,68	9,77
	(s +/-)		0,84	0,77	0,99

Tab. 35: zu Abb. 34

Zeit	(LT)		3	4	5	6	7	8
Gewicht	(g)	○	-	8,78	9,63	10,73	12,53	14,28
	(s +/-)		-	0,30	0,23	0,43	0,36	0,51
	(g)	△	-	-	10,39	12,30	-	-
	(s +/-)		-	-	0,39	0,53	-	-
	(g)	□	6,40	6,45	7,27	7,94	8,02	-
	(s +/-)		0,48	0,72	0,87	1,16	1,51	-

Tab. 36: zu Abb. 35

Zeit	(LT)		4	5	6	7	8
Gewicht	(g)	○	7,76	8,39	9,36	10,31	11,40
	(s +/-)		0,50	0,56	0,99	0,82	0,90
	(g)	△	7,67	8,23	9,13	10,22	-
	(s +/-)		0,93	1,04	1,29	1,51	-
	(g)	□	8,02	8,67	9,39	10,51	-
	(s +/-)		0,97	1,24	1,46	1,75	-

Tab. 37: zu Abb. 36

Zeit	(LT)		3	4	5	6	7
Gewicht	(g)	○	-	8,86	9,53	-	-
	(s +/-)		-	1,19	1,40	-	-
	(g)	△	-	8,74	9,25	-	-
	(s +/-)		-	1,08	1,25	-	-
	(g)	◇	-	9,13	9,65	10,47	10,82
	(s +/-)		-	0,49	1,01	-	-
	(g)	□	6,70	6,19	-	-	-
	(s +/-)		0,58	0,62	-	-	-
	(g)	▼	7,97	7,35	-	-	-
	(s +/-)		0,28	0,52	-	-	-

Tab. 38: zu Abb. 37

Zeit	(LT)	3	4	5	6	7	8	9	10
Gewicht	(g) o	7,58	8,14	8,57	9,18	9,69	10,79	11,91	13,03
	(s +/-)	0,19	0,29	0,29	0,20	0,33	0,61	0,77	0,68

Zeit	(LT)	11	12	13	14	15	17
Gewicht	(g) o	14,65	16,46	17,80	19,04	20,96	23,17
	(s +/-)	0,59	0,60	0,60	0,42	0,78	1,09

Zeit	(LT)	5	6	7	8	9	10	11
Gewicht	(g) ▵	9,09	10,72	12,17	13,40	14,61	16,15	17,93
	(s +/-)	1,16	1,12	1,31	1,36	1,44	1,70	1,96

Zeit	(LT)	12	13	14	15	19	20
Gewicht	(g) ▵	19,68	20,88	23,33	26,77	32,07	33,40
	(s +/-)	1,81	1,96	2,32	1,92	-	-

Tab. 39: zu Abb. 38

Zeit	(LT)	4	5	6	7	8	9	10
Gewicht	(g) o	7,94	8,71	9,21	10,43	11,53	13,22	15,05
	(s +/-)	0,94	1,07	1,19	1,60	1,74	2,13	2,65

Zeit	(LT)	11	12	13
Gewicht	(g) o	16,78	18,48	20,07
	(s +/-)	-	-	-

Zeit	(LT)	4	5	6	9
Gewicht	(g) ▵	9,43	10,36	10,93	15,73
	(s +/-)	1,13	1,28	1,74	2,69

Tab. 40: zu Abb. 39

Zeit	(LT)	4	5	6	7	8	9	10	11
Gewicht	(g) ○	7,80	9,05	9,80	10,72	12,10	13,30	15,02	16,19
	(s +/-)	1,35	1,77	1,91	2,40	2,60	2,81	2,77	2,73

Zeit	(LT)	12	13	14	16	18
Gewicht	(g) ○	17,80	19,56	21,04	23,19	26,01
	(s +/-)	2,49	1,89	2,17	1,74	0,21

Zeit	(LT)	3	4	5	6	7	8	9	10
Gewicht	(g) △	7,20	8,16	9,14	9,94	11,10	12,96	13,88	14,90
	(s +/-)	0,88	0,89	0,96	1,16	1,36	1,52	1,55	1,26

Zeit	(LT)	11	12	13	14	15	16	17
Gewicht	(g) △	16,13	17,05	18,94	19,65	20,39	21,73	22,13
	(s +/-)	1,46	1,72	1,80	1,80	2,02	2.22	2,63

Zeit	(LT)	20	22
Gewicht	(g) △	24,98	26,51
	(s +/-)	2,95	3,37

Zeit	(LT)	3	4	5	6	7	8	9	10
Gewicht	(g) □	6,86	7,60	8,28	8,94	9,49	10,83	11,48	12,24
	(s +/-)	0,37	0,44	0,53	0,42	0,49	0,50	0,57	0,84

Zeit	(LT)	11	12	13	14	15	16	17
Gewicht	(g) □	14,12	16,08	18,10	19,10	20,03	20.62	21,76
	(s +/-)	0,80	0,87	1,15	1,60	1,62	1,17	1,51

Zeit	(LT)	20	22
Gewicht	(g) □	26,14	29,38
	(s +/-)	2,57	3,15

Tab. 41: zu Abb. 40

Zeit (LT)		4	5	6	7	8	9	12
Gewicht (g)	○	7,69	8,40	9,35	10,52	11,76	13,63	18,11
(s +/-)		0,55	0,63	1,22	1,40	1,78	1,88	2,84

Zeit (LT)		3	4	5	6	9
Gewicht (g)	△	8,34	9,12	10,10	11,14	16,28
(s +/-)		0,49	0,63	0,73	0,99	1,13

Tab. 42: zu Abb. 41

Zeit (h)		0	6	24	48
Gewicht (g)	▽	10,09	9,80	9,57	8,93
(s +/-)		0,41	0,49	0,42	0,39

Tab. 43: zu Abb. 42

Zeit (LT)		3	4	5	6	7	8	9
Gewicht (g)	○	6,39	6,71	7,53	8,72	9,71	11,07	12,20
(s +/-)		0,40	0,23	0,34	0,44	0,54	0,48	1,00

Zeit (LT)		10	11	13
Gewicht (g)	○	13,51	15,00	17,22
(s +/-)		0,98	1,13	1,54

Tab. 44: zu Abb. 43

Zeit (LT)		4	5	6	7	8	9	10
Gewicht (g)	△	8,23	8,00	8,04	8,48	9,85	11,16	12,66
(s +/-)		0,88	0,89	0,93	0,92	1,22	1,43	1,80

Zeit (LT)		11	12
Gewicht (g)	△	14,00	15,99
(s +/-)		2,05	2,23

Tab. 45: zu 44

Zeit (LT)		4	5	6	7	8	11	14
Gewicht (g)	★	8,23	7,80	8,56	8,28	9,76	14,01	19,19
(s +/-)		0,89	0,83	0,94	0,84	1,03	1,40	1,90

Tab. 46: zu Abb. 45

Zeit (LT)		4	5	6	7	8	9	10	12
Gewicht (g)	□	8,47	8,40	9,36	9,75	10,72	11,82	12,77	16,05
(s +/-)		0,41	0,32	0,40	0,39	0,38	0,45	0,67	0,77

Tab. 47: zu Abb. 46

Zeit (h)		0	3	6	24
Gewicht (g)	▽	8,71	8,47	8,36	7,92
(s +/-)		0,56	0,34	0,32	0,35

Tab. 48: zu Abb. 47

Zeit (LT)		4	5	6	7	8	9	10
Gewicht (g)	○	7,61	8,21	8,62	9,50	10,10	10,98	12,30
(s +/-)		0,40	0,47	0,61	0,76	0,86	0,77	1,14

Zeit (LT)		12	14
Gewicht (g)	○	14,96	17,30
(s +/-)		1,21	1,49

Tab. 49: zu Abb. 48

Zeit (LT)		6	7	8	9	12	14
Gewicht (g)	△	9,56	9,74	9,96	9,96	13,10	15,43
(s +/-)		1,25	1,27	1,22	1,40	2,11	2,76

Tab. 50: zu Abb. 49

Zeit	(LT)		5	6	7	8	11	13
	(g)	★	9,88	11,05	11,62	12,68	17,83	22,46
	(s +/-)		0,58	0,45	0,56	0,64	0,55	0,77
Gewicht								
	(g)	■	10,65	11,77	12,25	13,35	18,81	23,13
	(s +/-)		0,58	0,73	0,64	0,64	0,54	0,90

Tab. 51: zu Abb. 50

Zeit	(LT)		6	7	8	9	12	14
	(g)	□	10,00	11,26	13,43	13,86	18,76	22,34
	(s +/-)		0,34	0,53	0,86	1,04	1,70	1,67
Gewicht								
	(g)	■	10,74	10,91	13,13	13,61	18,71	22,46
	(s +/-)		0,39	0,65	0,53	0,53	0,64	0,77

Tab. 52: zu Abb. 51

Zeit	(h)		0	24	48
	(g)	○	10,41	10,73	11,47
	(s +/-)		1,56	1,58	1,54
Gewicht					
	(g)	△	8,02	8,38	9,35
	(s +/-)		0,72	0,77	0,97

Tab. 53: zu Abb. 52

Zeit	(LT)		6	7	8	9	12	14
Bili-rubin	(mg/dl)	△	6,65	6,58	7,43	10,20	7,85	8,08
	(s +/-)		0,55	0,31	1,01	0,59	0,77	0,99
	(%)		100	99	112	153	118	121
Gewicht	(g)	▲	11,03	12,73	14,49	14,40	18,65	21,51
	(s +/-)		1,08	0,98	0,83	0,53	0,97	1,50

Tab. 54: zu Abb. 53

Zeit	(h)		0	3	6	24
Bili-rubin	(mg/dl)	o	9,23	1,80	1,53	0,80
	(s +/-)		0,49	0,72	0,72	0,62
	(%)		100	20	17	9
Gewicht	(g)	▽	7,10	7,06	7,10	6,92
	(s +/-)		0,29	0,31	0,29	0,54

Tab. 55: zu Abb. 54

Zeit	(h)		0	30'	3	24
Bili-rubin	(mg/dl)	o	7,47	4,97	3,50	3,30
	(s +/-)		1,26	0,60	1,15	1,21
	(%)		100	66	46	44
Gewicht	(g)	o	6,70	-	-	6,19
	(s +/-)		0,58	-	-	0,62
Bili-rubin	(mg/dl)	△	7,30	3,98	1,95	1,15
	(s +/-)		0,97	0,53	0,53	0,15
	(%)		100	55	27	16
	(g)	▽	7,97	-	-	7,35
	(s +/-)		0,28	-	-	0,52

Tab. 56: zu Abb. 55

Zeit	(h)		0	30'	3	24
Bili-rubin	(mg/dl)	o	9,00	7,10	6,00	10,30
	(s +/-)		0,91	0,54	1,40	1,00
	(%)		100	79	67	114
Gewicht	(g)	o	6,40	-	-	6,45
	(s +/-)		0,48	-	-	0,72

Frau Prof. Dr. L. Ballowitz möchte ich sehr herzlich danken für die Überlassung des Themas, die Anleitung und Betreuung während der Experimente und für ihre Geduld bei der Durchsicht der Arbeit.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei Herrn Prof. Dr. V. Hanefeld, der die histologischen Präparate beurteilte.

Ferner gilt mein besonderer Dank Frau Ludwig, Frau Goitia und Frau v. Reeden für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche und die Anfertigung der Gehirnschnitte, Frau Schäfer für die Durchführung der Fotoarbeiten sowie Herrn Dinzel für die Tierpflege.

L e b e n s l a u f

13. März 1949	Geboren als drittes Kind von acht Kindern der Eheleute Matthias Ollinger und Frau Elisabeth Ollinger, geb. Weier, in Saarburg/Bez. Trier
1955 - 1963	Besuch der Volksschule St. Laurentius, Saarburg
1963 - 1966	Besuch der Geschw.-Scholl-Berufsschule, Saarburg Lehre als Bürokaufmann, Saarburg
1966 - 1972	Kaufm. Angestellter in Saarburg, Konz und ab 1969 in Berlin
1970 - 1972	Besuch des Abendgymnasiums Dr. Stachowiak, Berlin und der Abendrealschule Max Liebermann, Berlin Mittlere Reife 1972
1972 - 1975	Besuch der Fachhochschule für Wirtschaft, Berlin Abschluß Hochschulreife 1975 Abschluß grad. Betriebswirt 1975
1975	Krankenpflegepraktikum Urban Krankenhaus, Berlin
ab SS 1976	Studium der Humanmedizin an der FU Berlin
April 1982 - März 1983	Praktisches Jahr mit Wahlfach Pädiatrie
Mai 1983	Approbation
1983 - 1985	Ass.-Arzt in der Kinderklinik des Friedrich-Ebert-Krankenhauses in Neumünster/Schl.-Holstein
ab Oktober 1985	Ass.-Arzt in der Inneren Abt. des Kreiskrankenhauses Bremervörde